

Aus der Ambulatorischen und Geburtshilflichen Veterinärklinik
der Universität Gießen.
Direktor: Professor Dr. Küst.

Untersuchungen von Bullensperma auf Beschaffenheit und Eignung für die künstliche Befamung.

DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
der veterinär-medizinischen Fakultät
der Hessischen Ludwigs-Universität
zu Gießen.

vorgelegt von
WERNER KUHNE
Tierarzt aus Wetzlar.

Gießen 1936

Buch- und Kunstdruckerei K. Schneider in Butzbach (Oberhessen)

Aus der Ambulatorischen und Geburtshilflichen Veterinärklinik
der Universität Gießen.

Direktor: Professor Dr. Küst.

Untersuchungen von Bullensperma auf Beschaffenheit und Eignung für die künstliche Besamung.

DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

der veterinär=medizinischen Fakultät
der Hessischen Ludwigs=Universität
zu Gießen.

vorgelegt von
WERNER KUHNE

Tierarzt aus Wetzlar.

Gießen 1936

Buch- und Kunstdruckerei K. Schneider in Butzbach (Oberhessen)

Gedruckt mit Genehmigung der veterinär-medizinischen Fakultät.
Referent: Professor Dr. Küst.

*Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet,*

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	5
2. Makroskopische Untersuchung	5
a) Schrifttum	5
b) Verschiedene Gewinnungsmethoden	9
c) Menge des gewonnenen Spermas	11
d) Farbe des gewonnenen Spermas	13
e) Konsistenz des gewonnenen Spermas	13
3. Mikroskopische Untersuchung	15
a) Schrifttum	15
b) Methodik der Untersuchung	31
c) Beweglichkeit der Spermien	32
d) Pathologisch veränderte Spermien	36
e) Spermienzählung	38
f) Vorkommen von <i>Trichomonas vaginalis</i> in Sperma und Präputialsekret	41
4. Bestimmung des pH-Wertes	44
a) Schrifttum	44
b) Technik der pH-Bestimmung	48
c) Bedeutung des pH-Wertes für die Qualität des Spermas	50
5. Untersuchung auf Haltbarkeit der Spermien	53
a) Schrifttum	53
b) Untersuchung unter Lichteinfluß und Lichtabschluß im offenen und geschlossenen Gefäß	59
6. Die Qualität des Spermas und ihre Bedeutung für die künstliche Besamung	61
a) Schrifttum	61
b) Eigene Ausführungen	64
7. Zusammenfassung	69
8. Schrifttumverzeichnis	73
9. Lebenslauf	77
10. Schlußwort	79
11. Tabelle	I u. II

1. Einleitung.

Im Rahmen der Sterilitätsbekämpfung beim Rinde wird von der Geburtshilflichen und Ambulatorischen Veterinärklinik zu Gießen, unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Küst, bereits seit einiger Zeit die künstliche Besamung durchgeführt. Anlaß dazu gab eine starke Verseuchung der Rinderbestände in verschiedenen benachbarten Gemeinden mit Trichomonaden, wodurch auch die Infektionsgefahr besonders für die in diesen Gemeinden stationierten Bullen erheblich gesteigert und eine gesunde Nachzucht in Frage gestellt wurde. Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, das von diesen Bullen gewonnene und zur künstlichen Besamung verwandte Sperma nach verschiedenen Gesichtspunkten hin zu untersuchen, in dem Bestreben, außer einer Würdigung des entsprechenden Schrifttums den Blick auf die für die Praxis wichtige Seite und Bedeutung dieser Untersuchungen zu lenken. Das Sperma selbst stammt von den Bullen einiger benachbarter Gemeinden Gießens. Es wurde, soweit es nicht zur Durchführung der künstlichen Besamung benötigt wurde, sofort nach der Entnahme per Auto nach der oben bezeichneten Klinik gebracht und dort im Auftrage von Herrn Prof. Dr. Küst von mir untersucht. Das entsprechende Schrifttum habe ich aus Gründen der Zweckmäßigkeit zu Beginn des inhaltlich jeweils dazugehörigen Kapitels behandelt.

2. Makroskopische Untersuchung.

a) S c h r i f t t u m.

Bei allen Schrifttumangaben über Menge, Farbe und Konsistenz von Sperma muß man zunächst einen Unterschied machen zwischen Mensch und Tier und dann wieder bei den einzelnen Tiergattungen unter sich. Ferner spielen Alter, Konstitution und vor allen Dingen die Art der Gewinnung eine nicht zu unterschätzende Rolle. Ebenso bleibt die Anzahl der Kohabitationen nicht ohne einen gewissen Einfluß.

So wird nach Hirowaka (zitiert nach Römmele, 32) die Menge und Lebenskraft der in der Samenflüssigkeit enthaltenen Samenfäden bei häufig aufeinanderfolgenden Ejakulationen geringer.

Römmele (32) selbst, der an Bullensperma eingehende Untersuchungen angestellt hat, gibt die ejakulierte Menge mit 4 ccm (Minimum) bis 35 ccm (Maximum) an.

Ludwig und Notnagel (zitiert nach Polowzow, 26) kommen auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Schluß, daß die Menge der Spermien nach vorausgehender Spermaausscheidung sich zu vermehren pflegt, wobei allerdings nicht gesagt wird, ob dies auch nach mehreren Ejakulationen der Fall ist. Die Angaben der oben genannten Autoren beziehen sich auf das Pferd.

Amantea e Krziczkowski, Lloyd Jones and Hays und Lewis (zitiert nach Polowzow, 26) halten häufige Kohabitationen ebenfalls für schädlich für die Spermienproduktion.

Polowzow (26) zeigt, wie auch die äußeren Lebensbedingungen ihren Einfluß auf die Funktionen der Geschlechtsorgane geltend machen und gibt an, daß die Spermaausscheidung bei einem Hengst in der Ruhe 42 ccm und bei täglicher Bewegung 58 ccm, bei einem anderen sogar 102 ccm betrug. Im allgemeinen schwankten die Mengen zwischen 10 und 130 ccm, wobei die größeren Mengen jedoch eine verhältnismäßig niedrige Zahl an Spermatozoen enthielten. Die Geschlechtsruhe, also die Zeit, welche für die Produktion neuen, befruchtungsfähigen Spermas in genügender Menge erforderlich ist, wird für Pferd, Mensch und Hund mit 48 Stunden, nach Amantea e Krziczkowski (zitiert nach Polowzow, 26) für den Hund mit 19—24 Stunden und für den Menschen mit 2—3 Tagen angegeben. Angaben für das Rind sind indessen nicht gemacht.

Mantegazza (zitiert nach Lode, 20) beschäftigte sich 1864 ebenfalls mit dieser Frage und ermittelte bei einem ca. 30 jährigen Mann Ejakulate von 0,75—6 ccm. Er konstatierte auch die Abnahme der Dichte der Zoospermien bei in kurzen Zeitabschnitten wiederholten Samenentleerungen und schätzte die zur Ersetzung des Sekretes notwendige Zeit nach der Quantität des Spermas auf 4 Tage.

Lode (20) gewann Sperma vom Hund durch Friktion der glans penis mit einem Durchschnitt von 1,0 ccm bei einer Mengendifferenz von 0,45—1,5 ccm. Auch er stellte eine stets sinkende Spermienzahl bei täglich ausgeführten Samenentziehungen fest und erhielt am 3. Tag kaum noch die Hälfte von der am 1. Tag erhaltenen Menge. „Die Menge der ejakulierten Flüssigkeit variiert dagegen ohne erkennbares Gesetz.“ Beim Menschen stellte Lode eine durchschnittliche Menge von 3,37 ccm bei einer Mengendifferenz von 1,80—5,0 ccm fest. Er schätzt die zur Reproduktion notwendige Zeit auf 3—4 Tage.

Donham (10) machte Feststellungen in der gleichen Richtung und erkannte eine gewisse Wechselbeziehung zwischen der

Menge und Qualität des Spermas auf der einen und der Häufigkeit der Ejakulationen auf der anderen Seite: „A good specimen collected at one service was not infrequently followed by a poor one at the next service and vice versa.“ Die Häufigkeit der Kohabitationen in Beziehung zum Spermaabild und zur Befruchtungsfähigkeit wurde bei Pausen von 3, 7 und 13 Tagen untersucht, nähere Angaben fehlen jedoch.

Bernhardt (5) gewann Sperma vom Hengst durch Ausstreichen der Harnröhre nach dem Deckakt; er erhielt auf diese Art die für einen Hengst geringe Menge von 10 ccm.

Richter (31) untersuchte eine Anzahl äußerlich gesunder, aber steriler Bullen und teilt darüber mit, daß nach einem ganz normalen Deckakt „nur geringe Mengen einer durchsichtigen, gelblichen Flüssigkeit festzustellen waren, in der Spermatozoen nicht nachzuweisen waren. Es handelte sich also bei dem Bullen um eine vollkommene Azoospermie; das geringe Ejakulat entstammte lediglich den Geschlechtsanhangsdrüsen.“ Die anschließende histologische Untersuchung ergab dann zahlreiche miliare Tuberkel im Interstitium.

Lagerlöf (17) führt verschiedene Autoren an und gibt deren mit Hilfe des Phantoms erzielte Spermamengen beim Bullen bekannt: Williams 6—8 ccm, Wester 5—20 ccm, Gilman 5 bis 10 ccm, Kusnetzowa 3—6 ccm und Lagerlöf 1—7 ccm. Nach Lagerlöf kann ferner das Volumen bedeutend variieren, wobei die 2. und 3. Sprünge meist besser sind. Vollkommene Aspermie soll jedoch beim Bullen sehr selten sein. Bezüglich des Menschen sagt Lagerlöf folgendes: „Sowohl Lode wie Amantea als auch Mönch und Holt haben bezüglich des Mannes beobachtet, daß wiederholter Beischlaf innerhalb einiger Stunden in der Regel bewirkt, daß die Spermienzahl schon beim dritten Ejakulat auf Null sinkt.“

Götze (13) gewann eine durchschnittliche Menge an Bullensperma von 4,7 ccm.

Iwanoff (16) macht einige Angaben über das Ejakulat des Hengstes und sagt: „Die Menge des vom Pferde abgesonderten Spermas kann 300 ccm (100 ccm im Durchschnitt) betragen.“ Seine Erfahrungen über die Häufigkeit der Kohabitationen faßt er dahin zusammen: „Bei häufig aufeinanderfolgendem Coitus wird die Menge der in der Samenflüssigkeit enthaltenen Samenfäden und deren Lebenskraft geringer. Zugleich fällt auch die Menge des ausgeschiedenen Spermas.“

Schließlich gibt Feiling (12) noch eine tabellenmäßige Uebersicht über die Spermamengen, die er bei den auch von mir untersuchten Bullen erhalten hat. Danach zeigen sich quantitativ alle Uebergänge von 1—15 ccm.

Ueber die Farbe und Konsistenz des Spermas finden sich im Schrifttum ebenfalls mancherlei Angaben. Auch hier spielen Tierart und Gewinnungsmethode eine gewisse Rolle.

Römmele (32) gibt für das Bullensperma die verschiedensten Farbtöne an: Gelblich, weingelb, schmutzig-gelb, schmutzig-grau, hellgelb, sahnig-gelb, schmutzig-braun, weißgelb, quittengelb, kaffeegeb und schließlich rahmig-weiß. Die erhaltenen Maximalmengen waren meist schmutzig und gelb bis braun.

Donham (10) erhielt bei gut zur Hälfte seiner Untersuchungen Sekretmengen von dünner, klarer und wässriger Beschaffenheit mit wenig Spermatozoen, zum geringeren Teil solche mit rahmartigem Aussehen; in letzteren fand sich jedoch eine verhältnismäßig hohe Zahl von Spermatozoen. „The character of the secretions varied from a thin, fairly clear watery fluid to one that was thick, rather tenacious and cream colored. Of 80 specimens examined, there were 34 which were thick, tenacious and cream colored, and in these there were large numbers of motile spermatozoa. In 43 specimens the secretion was thin, clear and watery. Thirtyeight of these contained comparatively few spermatozoa. In those specimens which were thick, tenacious and cream colored, the motility of the spermatozoa was frequently accelerated through dilution with. 85 per cent sodium chlorid.“ Inhaltlich die gleichen Angaben macht Dr. Simms (zitiert nach Donham, 10), der sowohl bei dünnem als auch bei stark konzentriertem Sperma gute und schlechte Beweglichkeit der Spermatozoen feststellte.

Zabel (41) sagt zusammenfassend: „Das Sperma, das Mischsekret der Hoden, ihres ausführenden Apparates und der akzesorischen Geschlechtsdrüsen, ist eine zähe, gelatinöse, klebrige, schwach alkalische Flüssigkeit mit einem eigentümlichen Geruch.“

Williams (38) äußert etwa die gleichen Ansichten hinsichtlich der Konsistenz des Spermas wie Donham (10), indem er sagt: „When very few or no sperms are present the discharge is often nearly clear and of a pale yellow color.“

Lagerlöf (17) sagt: „Das ejakulierte Sperma des Bullen ist eine undurchsichtige, weiße oder gelbweiße Flüssigkeit von milchigem oder sahnähnlichem Aussehen. Je stärker die Spermienkonzentration ist, desto weißer wird das Sperma, und bei völligem Fehlen von Spermien bildet das Ejakulat gewöhnlich eine wasserklare Flüssigkeit, die zuweilen etwas ins Gelbe spielt.“ Nach Römmele (zitiert nach Lagerlöf, 17) findet in gutem Sperma keine Sedimentierung statt, dagegen in schlechtem. Die Konsistenz richtet sich je nach der Konzentration. Erhöhte Vis-

kosität setzt nach Moench (zitiert nach Lagerlöf, 17) das Bewegungsvermögen herab.

Nach Götze (13) liefern die Wiederkäuer eine geringe Menge eines tropfbaren, rahmähnlichen, gelb gefärbten, außerordentlich dichten Spermas. Er schätzt die Dichte des Spermas und beurteilt sie folgendermaßen: Dichtes Sperma = ddd, mitteldichtes = dd, dünnes = d.

Feiling (12) benutzte für seine Beurteilung ebenfalls die allgemein üblichen Ausdrücke und bezeichnet dementsprechend die Konsistenz als wässerig, etwas wässerig, milchig und rahmig.

2b) Verschiedene Gewinnungsmethoden.

Im Anschluß an die obigen Ausführungen halte ich es für angebracht, auch über die verschiedenen Methoden der Spermagewinnung einen kurzen Ueberblick zu geben, da durch die Art der Gewinnung das Sperma sowohl quantitativ als auch qualitativ wesentlich beeinflußt und in seinem Wert für die künstliche Besamung unter Umständen stark herabgesetzt werden kann.

Besonders diejenigen Autoren, die sich speziell mit der morphologisch-histologischen Untersuchung der Spermatozoen beschäftigten, gewannen das zu untersuchende Sperma nach der Schlachtung oder Tötung des betreffenden Tieres oder durch die Kastration desselben. Vielfach wurde auch Sperma verwandt, das die Tiere in der Agonie ejakulierten. Daß diese Methoden für eine künstliche Besamung kaum oder nur zu einem ganz geringen Prozentsatz in Betracht kommen können, ist wohl einzusehen, abgesehen davon, daß die praktische Durchführbarkeit wohl auf große Widerstände stoßen dürfte.

Andere Autoren, z. B. Polowzow (26), Oppermann (24) und Iwanoff (16) gewannen das Sperma mit Hilfe der Schwamm-methode, die darin besteht, daß vor die Cervix ein sterilisierter Schwamm oder Wattebausch gebracht wird, der nach erfolgtem Deckakt wieder herausgenommen und ausgepreßt wird. Götze (13) hält jedoch diese Methode für sehr unzuweckmäßig, da man nicht das gesamte Sperma erhält und außerdem die Spermatozoen bei dieser Methode eine beträchtliche Schädigung erfahren.

Eine andere Methode besteht darin, daß mit einem Behälter gearbeitet wird, der entweder in der Vagina während des Deckaktes seinen Sitz hat oder als Kondom auf den Penis aufgestreift wird. Diese Methode wurde angewandt von Sand und Stribolt (zitiert nach Feiling, 12), Donham und Simms (10), nach verschiedenen anderen Versuchen auch von Römmele (32).

Bernhardt (5) gewann, wie bereits erwähnt, das Sperma des Hengstes durch Ausstreichen der Harnröhre nach dem Deckakt.

Lagerlöf (17) arbeitete ähnlich, indem er das nach dem Deckakt abtropfende Sperma auffing, beziehungsweise es mit der Hand oder einem Löffel aus der Scheide entnahm. Diese sogenannte Vaginalmethode fand u. a. Anwendung von Kusnetzowa, Milowanow, Neumann, Nagaew und Skatkin (zitiert nach Feiling, 12). Hierzu bemerkt Oppermann (24): „Die Untersuchung des vor der immissio penis und nach der Extraktion des Penis abfließenden Spermas kann zu Trugschlüssen führen (Wester). Man muß das beim Deckakt in die Vagina abgesetzte Sperma gewinnen und untersuchen.“

Eine weitere Gewinnungsmethode besteht nun in der mechanischen Reizung, d. h. in der Massage der Samenblase vom Rektum aus. Diese Methode wurde von Fincher beim Bullen angewandt, ferner von Moench beim Mann und von Kusnetzowa, Milowanow usw. beim Hund (sämtliche zitiert nach Feiling, 12). Ebenso bedienten sich Miller, Fred und Everette (zitiert nach Feiling, 12) beim Bullen der Massage der akzessorischen Geschlechtsdrüsen. Diese Methode wurde jedoch vielfach auch wieder abgelehnt, weil es dabei zu Schädigungen und Blutungen der genannten Drüsen kommen kann.

Eine Methode der Spermagewinnung, die sich neuerdings in der Praxis immer mehr durchsetzt, ist die mit der künstlichen Vagina, beziehungsweise die weiter modifizierte Form, die sog. Phantommethode. Der Hergang dabei ist folgender: Der Bulle wird einer Kuh zugeführt, die er in wenigen Augenblicken bespringen wird; im Augenblick des Aufspringens jedoch ergreift eine bereitstehende Person den Präputialschlauch und führt den ausgeschachteten Penis in die künstliche Vagina hinein, welche inzwischen neben die Kuh gehalten wurde. Das ejakulierte Sperma wird dann in einem am anderen Ende des künstlichen Vaginalrohres befindlichen Glasgefäß aufgefangen. Die Modifikation dieser Methode besteht darin, daß der Bulle an Stelle der Kuh ein Phantom bespringt, in welches an der entsprechenden Stelle die künstliche Vagina eingelegt wird. Diese Methode wird im Moskauer Institut für künstliche Besamung sehr viel und mit gutem Erfolg angewandt, sodaß sogar Hengste ein Kuhphantom anstandslos bespringen (nach Götze, 13). In Deutschland wird dieses Verfahren außer von Götze in Hannover in der Geburtshilflichen Veterinärklinik in Gießen, an der auch Feiling (12) seine Untersuchungen angestellt hat, regelmäßig durchgeführt. Der Italiener Amantea (zitiert nach Feiling, 12) hatte bereits im Jahre 1914 bei einem Hund mit dieser Methode Erfolg.

Zusammenfassend möchte ich zu diesem Punkt die Forderungen wiedergeben, die Götze (13) grundsätzlich für die Spermagewinnung aufstellt: „Das gesamte Ejakulat soll möglichst ohne

Verlust und Verschmutzung erfaßt werden. Die Lebensfähigkeit der Spermatozoen darf durch die Gewinnungstechnik nicht leiden. Die Zahl der Spermatozoen in der Kubikeinheit soll nicht vermindert werden. Die Gesundheit des Erzeugers muß erhalten bleiben, und die Gewinnung muß möglichst einfach sein. -- Mit Recht legt man der Methode der künstlichen Vagina die größte Bedeutung bei, die auf dem Gebiete der Haustierbesamung tatsächlich etwas technisch Neues darstellt und manches Unerwartete bringt.“

Feiling (12) hat die Spermagewinnung durchgeführt mit der künstlichen Vagina, mit dem Phantom und durch Massage vom Rektum aus. Er sagt am Schluß seiner Ausführungen: „Ich komme zu dem Endergebnis, daß für die künstliche Besamung des Rindes die Gewinnung des Samens mit Hilfe der künstlichen Vagina allen anderen Gewinnungsmethoden in jeder Hinsicht überlegen und deshalb zu bevorzugen ist.“

Auch das von mir untersuchte Sperma wurde zum weitaus größten Teil mit der künstlichen Vagina, zum geringeren Teil mit Hilfe des Phantoms und nur in wenigen Ausnahmen durch Massage vom Rektum aus gewonnen.

2c) Menge des gewonnenen Spermas.

Wie wir bereits aus dem angegebenen Schrifttum ersehen konnten, schwankt die an sich geringe Menge des ejakulierten Bullenspermas innerhalb gewisser Grenzen, die sich für den Bullen jedenfalls nicht irgendwie gesetzmäßig festlegen lassen.

Ich habe es bei meinen Versuchen, bzw. Untersuchungen stets so gehalten, daß in die Verschlussschuppe der künstlichen Vagina ein Glasgefäß mit ccm-Einteilung eingesetzt wurde, so daß die erzielte Menge an ejakuliertem Sperma direkt bestimmt werden konnte, welche zwischen 0,5 ccm (Minimum) bis zu 14 ccm (Maximum) schwankte. Bei insgesamt 102 Ejakulaten betrug die erreichte Gesamtmenge 466,8 ccm, also entfallen auf einen Bullen durchschnittlich 4,58 ccm pro Ejakulat (vergl. Tabelle auf Seite I u. II. Diese Zahl kommt dem von Götze (13) erreichten Durchschnitt von 4,7 ccm sehr nahe.

Der Einfluß der Gewinnungsmethode auf die Menge des ejakulierten Spermas macht sich beispielsweise dahin geltend, daß man mit der künstlichen Vagina, bzw. mit der Phantommethode verhältnismäßig wenig, aber gut konzentriertes Sperma erhält, während die rektale Massage ein quantitativ höheres, dafür aber weniger gutes Ejakulat liefert. Das läßt sich dadurch erklären, daß der Bulle im ersten Fall zunächst den Höhepunkt der geschlechtlichen Erregung erreicht und dann durch einen kräftigen Nachstoß in die Vagina das Sperma fast rein und

daher konzentriert ausstößt. Bei der rektalen Massage dagegen liegen die Verhältnisse vielfach so, daß der Bulle zunächst eine größere Menge Harn absondert, worauf eine tropfenweise, seltener im Strahl erfolgende Ausscheidung des Spermas erfolgt. Die Schwierigkeit bei der Durchführung dieser Methode dürfte vor allen Dingen darin liegen, daß die Kraft der Massage mit dem jeweiligen Erregungszustand des Bullen genau in Einklang gebracht werden muß, da bei jedem Nachlassen der mechanischen Reizung der Bulle von sich aus nachzuhelfen sucht, indem er die Bauchpresse betätigt und dadurch wieder mehr oder weniger große Mengen Harn absetzt, welche das Ejakulat verunreinigen. Es leuchtet ein, daß man auf diese Art sowohl quantitativ als auch qualitativ sehr unterschiedliche Ejakulate bekommen kann.

Eine andere Frage ist die, welchen Einfluß mehrere Ejakulationen innerhalb kurzer Zeit auf das Sperma und seine Beschaffenheit ausüben. Bei den Ausführungen des Schrifttums hatte ich ja darauf hingewiesen, daß in erster Linie beim Mann sowohl die mengenmäßige Beschaffenheit des Spermas als auch die zahlenmäßige der Spermatozoen selbst infolge rasch aufeinanderfolgender Ejakulationen stark herabgesetzt wird.

Hinsichtlich der Spermamengen beim Bullen zeigen meine Untersuchungen jedenfalls das Gegenteil an. Aus der auf Seite I u. II nachfolgenden Zusammenstellungen ist dementsprechend zu entnehmen, daß die bei mehreren kurz aufeinanderfolgenden Ejakulationen abgesonderten Spermamengen fast ausnahmslos mit jedem Ejakulat zunehmen.

Bulle:	1. Ejak.:	2. Ejak.:	3. Ejak.:
Josef	2,0 ccm	2,5 ccm	3,5 ccm
Kinzenbach	2,0 „	5,0 „	5,0 „
Josef	2,8 „	3,5 „	„
Josef	3,0 „	4,0 „	„
Josef	3,0 „	6,0 „	„
Fleckviehhulle	3,5 „	5,0 „	„
Josef	4,0 „	8,0 „	„
Josef	4,5 „	5,5 „	„
Kinzenbach	4,5 „	6,5 „	„
Klinikbulle	4,5 „	7,5 „	„
Freiherr	5,0 „	7,0 „	„

Ueber die Qualität des Spermas wird in späteren Kapiteln noch im einzelnen zu berichten sein. Ich kann jedoch hier schon vorwegnehmen, daß auch diese sich mit jedem weiteren Ejakulat fast immer verbesserte. Desgleichen wird der pH-Wert und die Spermienzahl von diesem Gesichtspunkt aus noch besonders zu betrachten sein

2d) Farbe des gewonnenen Spermas.

Die Farbe des Spermas ist bedingt durch die in der Samenflüssigkeit suspendierten Spermatozoen und wird weiterhin beeinflusst durch Beimengungen von Harn, Blut und anderen Substanzen, welche auf Grund ihrer charakteristischen Eigenfarbe den Farbton des normalen Spermas zu ihren Gunsten verändern. So kommt es, daß ein reines, unvermisches Ejakulat infolge der Lichtbrechung der an sich farblosen Samenfäden einen fast rein weißen Farbton zeigt, der umso intensiver ist, je mehr Spermatozoen in dem betreffenden Ejakulat vorhanden sind. Andererseits wird jede Beimengung von beispielsweise Harn dem Ejakulat eine gelbliche bis braune Tönung verleihen, die ihrerseits wieder umso sinnfälliger sein wird, je stärker diese Vermischung stattgefunden hat. Analog zeigt sich selbstverständlich jede Beimengung von Blut in einer mehr oder weniger rötlichen Tönung des Spermas. Ein mehr schmutziges Aussehen erhält das Sperma dann, wenn Epithelien, Kristalle und andere körperliche Bestandteile darin enthalten sind, die normalerweise nicht hineingehören. Es liegt auf der Hand, daß das Sperma durch alle diese Beimengungen auch eine Aenderung in der Konsistenz erfährt, wodurch vielfach ein trüb-wässeriges Aussehen bedingt wird. Ich beurteilte die Farbe der von mir untersuchten Spermaproben nach Möglichkeit immer bei Tageslicht und zwar im auffallenden Licht, da ja bei Kunstlicht nicht immer eine richtige Beurteilung von Farbtönen möglich ist. Das ist besonders wichtig bei Spermauntersuchungen, wo es um die Beurteilung von oft ganz geringen Farbnuancen geht, die jedoch für eine makroskopische Betrachtung schon von einigem Wert sein können.

Wester (zitiert nach Falk, 11) vertritt sogar den Standpunkt, daß die makroskopische Beurteilung des Samens mehr Anhaltspunkte bietet als die mikroskopische. Besonders erwähnen möchte ich in diesem Zusammenhang einen Bullen „Hausen“, der stets ein intensiv gelbes Sperma lieferte, welches man unter 100 verschiedenen Proben als die jenes bestimmten Bullen hätte erkennen können.

2e) Konsistenz des gewonnenen Spermas.

Gutes Bullensperma zeigt im allgemeinen eine zähe, klebrige Beschaffenheit mit leicht fadenziehender Eigenschaft, welche der Samenflüssigkeit eigentümlich ist. Wie schon angedeutet, werden diese Merkmale durch Zusätze von fremden Substanzen mit noch höherer oder geringerer Konsistenz, in erster Linie also Harn, entsprechend verändert. Das ist wiederum für das Rind.

in unserem speziellen Fall also für den Bullen, bedeutungsvoll, weil das Rind einmal von unseren Haustieren den durchschnittlich größten Harnabsatz aufweist und zum anderen einen im Vergleich zum Pferde dünnen Harn absetzt. Es leuchtet also ein, daß bei der geschlechtlichen Erregung des Bullen zugleich ein Gesamtreiz auf das Urogenitalsystem wirksam ist, der sich in einer mehr oder weniger starken Harnabsonderung offenbaren kann, was meiner Ansicht nach besonders bei der Spermagewinnung durch rektale Massage zu beachten ist. Ich glaube ferner, die Ansicht vertreten zu können, daß dieser Reiz beispielsweise bei der Anwendung der künstlichen Vagina oder der Phantommethode sich weniger äußerst, weil hier der Bulle sozusagen ungestört ejakulieren kann, während bei der rektalen Massage, wie ich schon ausführte, die massierende Hand das gesamte Genitalgebiet in einen gewissen Reizzustand versetzt und auf diese Art zu häufigerem Harnabsatz Anlaß gibt. Dies alles sind meiner Ansicht nach Momente, die zunächst zwar bei der Spermagewinnung, dann aber auch bei der Beurteilung des Spermas hinsichtlich der Konsistenz zu berücksichtigen sind. Denn die Konsistenz eines Ejakulates ist wieder von Bedeutung für die qualitative Gesamtbeurteilung des Spermas, besonders für die Zahl der Spermatozoen und ihre Lebenskraft. Es wird sich auch bei den weiteren Betrachtungen noch öfters ergeben, daß beispielsweise in einem dünnen oder wässerigen Ejakulat die Spermienzahl mitunter stark herabgesetzt ist und infolgedessen das Sperma an Wert natürlich verliert. Es zeigt sich, daß in solchen Fällen, wo die infolge der starken Spermienkonzentration vorhandene dichte Konsistenz des Bullenspermas wesentlich herabgesetzt ist, die Zahl der Spermien in der Kubikeinheit beträchtlich vermindert ist und mitunter weit hinter einer Durchschnittsziffer von etwa 1 Million Spermien pro cmm zurückbleibt. Bezüglich der Beurteilung der Konsistenz des Bullenspermas habe ich mich an die allgemein üblichen Bezeichnungen gehalten und unterscheide zwischen wässriger, dünner, dünn-milchiger, milchiger, sahniger und rahmiger Beschaffenheit. Die Zahl der Spermien schwankt zwischen 0,06 Millionen im cmm Sperma bei ausgesprochen wässriger und 2,53 Millionen im cmm Sperma bei rahmiger Konsistenz. Eine kurze Zusammenstellung über meine Beobachtungen ergibt daher folgendes Bild:

Konsistenz:	Spermienzahl:
wässrig	0,06 Millionen
dünn	0,32 ..
dünn	0,40 ..
dünn	0,51 ..

Konsistenz :	Spermienzahl :
dünn-milchig	0,75 Millionen
dünn-milchig	0,76 „
milchig	1,77 „
milchig	1,79 „
sahnig	1,80 „
sahnig	2,07 „
sahnig	2,11 „
rahmig	2,53 „

Zusammenfassend ergeben die makroskopischen Untersuchungen folgendes Bild: Hinsichtlich der gewonnenen Spermamenge bestehen erhebliche Schwankungen zwischen 0,5—14 cem, die teilweise durch die verschiedenen Methoden der Gewinnung bedingt sind. Bei mehreren kurz hintereinander folgenden Sprüngen nimmt die Samenmenge beim Bullen gewöhnlich zu. Die Farbe eines guten einwandfreien Bullenspermas soll möglichst rein weiß sein: sie kann ungünstig beeinflusst werden durch fremde Beimengungen bzw. Verunreinigungen. Die Konsistenz soll rahmig-sahnig, dickflüssig sein. Sie wird herabgesetzt durch Hinzutreten von Harn und Blut, wodurch gleichzeitig die Spermienzahl in der Kubikeinheit vermindert und weiterhin eine Wertminderung des Ejakulates für die künstliche Besamung verursacht wird.

3. Mikroskopische Untersuchung.

a) Schrifttum.

Ballowitz (2) hat sowohl über den feineren Bau als auch über die Beweglichkeit der Spermatozoen genauere Untersuchungen angestellt und seine Beobachtungen darüber veröffentlicht. Er bestätigt die auch von Jensen (zitiert nach Ballowitz, 2) gemachte Feststellung, daß die Hülle des Verbindungsstückes, z. B. bei der Ratte, sehr feine und nur schwer erkennbare Spiralbildungen aufweist, die mit zunehmender Reifung des Samenfadens zunächst deutlicher hervortreten, jedoch immer enger werden und daher später nicht mehr zu erkennen sind. Er beobachtete ferner Geißeln, von welchen der Kopf abgefallen war, die sich noch längere Zeit sehr lebhaft bewegten, wenn auch unregelmäßig. Kontraktil ist nach ihm lediglich der von der Hülle freie Teil des Achsenfadens, also der Hals, und der übrige Achsenfaden, der Schwanz. Bezüglich der beiden sich verschieden stark färbenden Teile des Spermienkopfes, Vorderstück und Hinterstück, äußert sich Ballowitz wie folgt: „Höchst wahrscheinlich sind diese beiden wesentlich verschiedenen Bestandteile hervorgegangen aus

den beiden von Merkel nachgewiesenen Kernhemisphären, die sich in dem aus dem Zellkern entstehenden, noch unentwickelten Kopf differenzieren.“

Scheuring (zitiert nach Römmele, 32) unterscheidet zwei Bewegungsphasen, die sich addieren: Eine wirbelnde, um das Ei aufzusuchen, und eine drehende, bohrende, um in das Ei einzudringen. Ferner sollen Spermien in leicht alkalischen Flüssigkeiten besser beweglich sein als in stark alkalischen oder sauren, während man im Bruntschleim meist nur schlängelnde Bewegung findet.

Römmele (32) gibt an, daß bei Kälte die Bewegung sistiert, der Stoffwechsel stark herabgesetzt und die kinetische Energie aufgespart wird. Die unterste Grenze für Beweglichkeit ist $4-6^{\circ}\text{C}$, die obere 47°C . (Hirowaka, 15). Ferner entwickelt sich bei Zimmertemperatur nach einigen Tagen eine starke Bakterienflora, welche die Bewegung hemmt.

Broman (6) beobachtete eine normale Bewegungsfähigkeit selbst bei abnormen Spermien. Er sieht in der Mehrschwänzigkeit eine Befähigung zu gesteigerter Bewegung und sagt daher: „Dagegen haben aller Wahrscheinlichkeit nach die mehrschwänzigen einköpfigen Spermatozoen eine relativ sehr große Bedeutung.“

Peter (25) sagt: „Isolierte Schwänze (von Spermien des Frosches) fand ich auch in Bewegung, vermißte dann aber nie das am Ende befindliche stark glänzende Knöpfchen, eben das Mittelstück. Geißeln, an denen dies Körnchen nicht zu finden war, verharrten regungslos. Die Frage entscheidet sich also dahin, daß auch hier das „Basalkörperchen“ der Schwanzgeißel, das Mittelstück, die motorische Tätigkeit der umgewandelten Zelle beherrscht.“ Ballowitz dagegen „stattet nämlich den in feine Fibrillen zerlegbaren Schwanzfaden mit Eigenbewegung aus.“

Merton (21) hat zahlreiche Versuche an Meerestierspermien durchgeführt und sieht als Sitz der Energiequelle das Verbindungsstück an. „Die Bewegungen des Schwanzstückes sind somit rein passiver Natur.“ Das Verbindungsstück kann im Extrem punktförmig sein oder fast die Spermie in ihrer ganzen Länge einnehmen (Pulmonaten); dazwischen finden sich alle Uebergänge.

Stiegler (33), der mit menschlichen Spermien arbeitet, schreibt folgendermaßen: „Die Spermien des Hodens und Nebenhodens unterscheiden sich durch ihre verschiedene Motilität. Hammar und Walker fanden bei Hunden die Spermatozoen des Hodens und Nebenhodens bewegungslos, die Spermatozoen des Neben-

hodenschwanzes aber mäßig aktiv beweglich. Walker beobachtete auch, daß sich auf Zusatz von Prostatasekret die Spermatozoen des Hodens nur träge, die des Nebenhodens aber lebhaft bewegen.“ Schaffer (zitiert nach Stiegler, 33) hat nun intraepitheliale alveoläre Drüsen im Nebenkopf entdeckt. Mantegazza (zitiert nach Stiegler, 33) beobachtete, daß die Spermien eines eine halbe Stunde nach der ersten Kohabitation gelieferten zweiten Ejakulates sich mit viel geringerer Energie bewegten als die des ersten. Versuche an Spermien von Ratten, Mäusen und Meer-schweinchen zeigten folgendes Bild:

- im Hoden, unverdünnt: Spermien unbeweglich;
- im Nebenhoden, unverdünnt: Spermien sehr schwach beweglich;
- im Hoden, verdünnt mit 0.004% NaOH-Lös.: Spermien träge beweglich;
- im Nebenhoden, verdünnt mit 0.004% NaOH-Lös.: Spermien sehr lebhaft.

Stiegler (33) sagt weiter: „Der Unterschied in der Motilität und Wärmewiderstandsfähigkeit zwischen den Spermatozoen des Hodens und Nebenhodens ist nicht durch das Medium herbeigeführt, sondern durch die verschiedene Beschaffenheit der Spermatozoen selbst.“ Ferner wird die Vermutung ausgesprochen, daß das Nebenhodensekret die Vitalität der Spermatozoen fördernde Stoffe enthält, die dem Samenblasensekret fehlen. „Die beträchtliche Länge der vielfach gewundenen ductuli efferentes testis und des ductus epididymidis haben offenbar eine ähnliche Bedeutung für die Spermatozoen wie die Länge des Darmes für den Speisebrei.“

Für die aktive Bewegung kommt nach Verworn (zitiert nach Dätwyler, 9) nur Quellung der Zellwände oder Kontraktion und Expansion des Zellkörpers in Frage.

Dätwyler (9): „Säuren, das ist das H-Ion in gewissen Konzentrationen, hemmen die Bewegung oder heben sie vollständig auf.“ Die Beschaffenheit des Mediums ist vor allen Dingen für die Bewegung von großer Bedeutung. Dätwyler sagt dann weiter: „Sitz der Bewegungsenergie ist nach Koltzow der Spiralfaden des Zwischenstückes, nach Waldeyer der Achsenfaden und wahrscheinlich das hintere Zentrosom, nach Ballowitz die von ihm nachgewiesenen Fibrillen, nach Benda das Zentrosom, wobei der Spiralfaden der aktive und der Achsenfaden der passive Motor ist. Ferner ist leichte Alkaleszenz des Mediums nach Waldeyer der Bewegung günstig, doch hält sie auch bei geringen Säuregraden lange an.“ Dätwyler (9) selbst glaubt, daß die Vorwärtsbewegung durch intermittierende ungleich schnelle Form-

veränderung, also Streckung und Krümmung des Schwanzes, zustandekommt und daß ferner die Spermatozoen eine gewisse Oberflächenspannung haben, weshalb man „versuchen könnte, auf dieser Basis zu einem Verständnis der Bewegung der Spermien zu gelangen.“ „Gleicherweise kann auch die Quellung als Ursache der Spermatozoenbewegung ins Auge gefaßt werden“. Die Richtungsbestimmung geschieht in erster Linie durch Chemotaxis, d. h. durch Substanzen, die aus dem Ei stammen, und die auf den Bewegungsapparat der Spermatozoen richtunggebend einwirken, wobei sich das Spermatozoon einem Konzentrationsgefälle entgegenbewegt. Der Einfluß der Temperatur äußert sich derart, daß sich die Beweglichkeit bei niedriger Temperatur länger erhält als bei hoher. Bei zunehmender Viskosität wird die Bewegung herabgesetzt oder ganz eingestellt, nach erfolgter Verdünnung jedoch wieder aufgenommen.

V. la Valette St. George (36) glaubt nicht an eine selbständige Bewegung der Köpfe. „Das Treibende für die Samenkörper der Wirbeltiere ist der Faden, dessen Baumaterial von dem, wie ich nachgewiesen habe, in hohem Grade kontraktiles Protoplasma der Samenzellen geliefert wird.“

Krämer (zitiert nach v. Brunn, 7) gibt für die Bewegung menschlicher Spermien an, daß sie in langsamer Krümmung und schneller Ausstreckung des Körperchens bestehe und erklärt die Fortbewegung durch den Widerstand der umgebenden Flüssigkeit gegenüber dem Schlag des Schwanzes. Er faßt die Bewegungen als willkürliche auf und folgert aus ihnen die Ziernatur der Spermatozoen.

Grohe (zitiert nach v. Brunn, 7) sucht die Bewegungsursache in einem kontraktilen Inhalt des Kopfes und Schwanzes und will die Zusammenziehungen desselben in fortwährenden Formveränderungen des Kopfes direkt beobachten.

Eimer (zitiert nach v. Brunn, 7) meint, daß durch das Schlagen des Schwanzes ein schraubenförmiges Vorwärtsschieben des Ganzen zustandekomme, wobei ein sanduhrförmiger Hohlraum umschrieben würde, dessen Drehpunkt sich hinter der Mitte des Mittelstückes befinden soll; das soll besonders zweckmäßig für das Eindringen in das Ei sein.

V. Brunn (7) sagt, die Bewegung geht vor sich wie bei den Flimmercilien, in demselben Rhythmus und auch nur in einer Ebene; dazu kommt eine Rotation um die Längsachse, die durch die Kopfform bedingt ist, da ja alle platten Körper in Rotation geraten, wenn sie durch Widerstände aus ihrer regelmäßigen Bahn gebracht werden. „Die Bewegung ist also durchaus dieselbe wie die Flimmerbewegung.“ Die Schwänze bilden sich im Zell-

inneren, wo sie spiralig aufgerollt liegen, fertig aus und schnellen dann plötzlich heraus; diese Vermutung lag deshalb nahe, weil man nie Schwänze mit verschiedener Länge findet.

V. Wiedersperg (37) äußert ebenfalls die Ansicht, daß die Geißel sich im Inneren der Zelle ausbildet. Er sagt dann weiter: „Ja sogar die Samenkörper, die schon freigeworden in den Hodenkanälchen liegen, ja selbst die des vas deferens verhalten sich so lange vollkommen bewegungslos, als sie nicht in ein anderes Medium geraten. Die Bewegung kommt ausschließlich der Geißel zu und habe ich, wie es auch v. la Valette St. George angibt, sehr häufig Geißeln gefunden an denen der Kopf fehlte und die sich mit der größten Lebhaftigkeit bewegten, ja ihre Lokomotion war eine ungleich raschere und leichtere, weil sie die Last des Kopfes nicht zu schieben hatten.“ Bei abgeknicktem Schwanz beobachtete Wiedersperg häufig Manegebewegungen.

Redenz (27) macht ebenfalls sehr interessante Angaben: „Bei 37 ° C bewegen sich Retespermien und Schweifpermien lebhaft. Die Bewegungen der Schweifpermien sind kräftiger, mehr mit einer Vorwärtsbewegung verbunden, und das kontraktile System ist gegen Aenderungen der umgebenden Flüssigkeit besser geschützt. - Der lange Gang (ductus epidymidis) konnte nach meinen bisherigen Untersuchungen als ein Sammelrohr definiert werden, in dem die Spermien sich selbst mit einem schützenden Kolloidmantel umgeben, der die Eigenschaft hat, die Beweglichkeit unter Sparung der Bewegungsenergie zu erhalten.“ Ferner hat Redenz Retespermien durch Zusatz von NaOH zu heftigen Bewegungen veranlaßt. „Mit zunehmender Menge der Verdünnungsflüssigkeit und in Abhängigkeit von der H-Ionenkonzentration nahm die Bewegungsdauer ebenfalls zu. Die Spermien einer Nebenhodenkopfzyste ließen sich weder durch Erwärmung noch durch Rohrzuckerlösung oder alkalische Ringerlösung zu Bewegungen veranlassen. Auch nach geringer Verdünnung mit Ringerlösung (pH = 6,7) zeigten sie keine Wanderung. Durch Eiweißzusatz zu physiologischen Salzlösungen wird die Bewegungsdauer verlängert. Es ist jedoch sicher, daß Lösungen mit geringem Elektrolytgehalt oder stark zurückgedrängter Dissoziation ein optimales Milieu für die lange Erhaltung der Beweglichkeit darstellen. Erst durch diese Eigenschaften des Nebenhodensekretes wird der Nebenhoden ein Samenspeicher, der die Spermien dauernd bewegungsbereit erhält.“

Cary (8) ist der Ansicht, daß man aus der Feststellung der Lebensäußerung der Spermatozoen allein noch nicht auf ihre Fähigkeit zur Befruchtung schließen darf und daß ferner das Fehlen von Bewegung noch kein Zeichen für Befruchtungsunfähigkeit ist. Nach Groß (zitiert nach Cary, 8) dauert die Bewe-

gung 12 Stunden an, nach Cary (8) jedoch noch viel länger. In Vermischung mit den Vaginalsekreten zeigten menschliche Spermien eine gesteigerte Beweglichkeit, während sie, direkt vom Mann entnommen und also unbeeinflusst, eine schlechte Beweglichkeit aufwiesen, die sich jedoch nach Zusatz von einigen Tropfen Salzlösung verbesserte. „If they fail to do so they are probably no longer viable.“ Leigois (zitiert nach Cary, 8) empfiehlt daher, in Sterilitätsfällen eine Injektion von Salzlösung nach der Kohabitation in die Vagina vorzunehmen.

Reynolds (29) legt den Hauptwert bei der Untersuchung auf die Lebenskraft, die sich bei der Dauer der Untersuchung zeigt, und vor allem auf die Qualität der gegenwärtigen Beweglichkeit. Er unterscheidet drei Typen der Bewegung: 1. In frischem Samen bewegt sich ein Spermatozoon geradeaus in 5 Sekunden durch das mikroskopische Gesichtsfeld, wenn keine Strömung oder Hindernisse bestehen. 2. Es besteht eine deutlich herabgesetzte Schnelligkeit; langer, langsamer Schwanzschlag von einer Seite nach der anderen, woran fast die ganze Schwanzlänge beteiligt ist; Kopf und Mittelstück schlagen dabei um ca. 90° aus. Das Spermatozoon schlängelt sich vorwärts und wird in seiner Richtung durch die Umgebung bestimmt. Dieser Typ wurde „undulatory tactile“ (wellenförmig fühlbar) genannt im Gegensatz zu dem „progressive vibratile“ (leicht schwingend fortschreitenden). 3. Es besteht die Tendenz des Spermatozoon, sich unter fischschwanzartigen Bewegungen in einen Zellhaufen oder sonstige Substanzen einzuwühlen. „These spermatozoa are apparently not caught in the debris or unable to move off.“ Der dritte Typ wurde nur beobachtet bei Samen, der mit weiblichen Genitalsekreten vermischt war, oder wenn sich viele Epithelzellen fanden. „It seems that only the most vigorous individuals ever reach this stage.“ Alle Spermatozoen durchlaufen also diese drei Stufen nacheinander, wobei die letzte mithin eine Stufe höchster Lebensenergie darstellt.

Lespinasse (19) vertritt den Standpunkt, daß in einem etwa 1—2 Stunden alten Sperma normalerweise noch eine gute Vorwärtsbewegung vorhanden ist. Bei der Beurteilung sei vor allem zu achten auf die Zeit, die seit der Ejakulation verstrichen ist, die Bedingungen, unter denen das Ejakulat gewonnen wurde und auf die Viskosität des Samens. „If the semen is markedly clotted, the progressive motion will be much slower, but the attempts at progression and the movement in situ will be very active. As time goes on and the clot thins, the progress motion will become more and more active. In from five to ten hours in normal cases, depending on external conditions, all move-

ment.“ Die Beweglichkeit der Spermatozoen variiert von einer normalen bis zum vollkommenen Stillstand.

Falk (11) scheint der mikroskopischen Untersuchung des Spermas etwas skeptisch gegenüberzustehen, indem er sagt: „Die Beweglichkeit hängt von vielen Umständen ab, so daß man in dieser Hinsicht vorsichtig mit Schlußfolgerungen sein muß. Es kommt der Untersuchung des Samens nur eine ergänzende Bedeutung zu. Die mikroskopische Untersuchung kann z. B. in den Fällen irreleiten, in welchen innere Genitalerkrankungen vorliegen.“

Donham (10) gibt eine, bereits oben erwähnte, bewegungsfördernde Verdünnung mit 0.85% sodium chlorid an. Ein Unterschied zwischen normalen und anormalen Bewegungen wurde nicht gemacht: es wurde lediglich festgestellt, daß einzelne Spermatozoen sich äußerst lebhaft bewegten, dann eine Weile regungslos verharreten, um schließlich wieder das frühere Bewegungstempo aufzunehmen. Ein Wechsel des Bewegungstypes wurde ebenfalls dabei festgestellt. Donham beschreibt ferner mit Cilien versehene Epithelzellen, die im Sperma vorkamen und sich sehr lebhaft bewegten. Er trifft die Beurteilung des Spermas weiterhin nach Beweglichkeitsprozenten: 0—25%, 25—50%, 50—75%, 75—90% und 90—100% (nach Schätzung); 90% und darüber werden als normal angesehen. So stellte er folgendes fest:

a) 9 Bullen mit normalem Sperma — 5 befruchteten (= 55%)

b) 15 Bullen mit anormalem Sperma — 5 befruchteten (= 33%)

Im Falle a) waren für eine Befruchtung 2,1 Sprünge nötig, im Falle b) dagegen 2,94.

„Normal motility above 90% — 47, 52%.

Below normal motility — 52, 48%.“

Diese Angaben beziehen sich auf die von Donham angestellte Gesamtuntersuchung. Ferner zeigte sich, daß selbst schlecht deckende Bullen bei einer normalen Spermienbewegung trotzdem ein gutes Befruchtungsergebnis zeitigen können: Von 75 gut deckenden Bullen mit 56% normaler Spermienbewegung befruchteten 40%, von 30 schlecht deckenden Bullen mit 56,67% normaler Spermienbewegung befruchteten jedoch 50%.

Hirowaka (15) schreibt: „Nach Kollikers und Fürbringers Untersuchung kommt dem Prostatasekret eine für die Vitalität der Spermatozoen günstige Eigenschaft zu. Steinach gab zu dem Prostatasekret einige Tropfen physiologischer NaCl-Lösung und erzielte damit eine gute und langanhaltende Bewegung. Nach Walker gibt das Prostatasekret den unmittelbaren Anstoß zur Bewegung der Spermatozoen, wobei erregende und nährende

Stoffe des Prostataasaftes für die Fortdauer der Bewegung über längere Zeiträume in Frage kommen. Nach Finger beruht die anregende Wirkung auf einer saueren Reaktion des normalen Sekretes, nach Kasper dagegen auf einer alkalischen.“

Stieve (34) untersuchte Spermien aus Hoden und Nebenhoden und sagt darüber: „Daß sie nur wenig beweglich waren, kann nicht verwundern, die Spermien werden ja erst lebhaft beweglich, wenn sie mit der Ausscheidung der Prostata in Berührung kommen.“

Braus und Redenz (zitiert nach v. Lantz, 18) halten eine Beweglichkeit des Schwanzes ohne das Verbindungsstück für ausgeschlossen.

„Nach Weber (Toivola, 35) sind die gesunden Samenfäden imstande, sich in einer Minute 1,2—4 mm gegen den Strom fortzubewegen, sie können also bei der Kuh den Eileiter 5—6 Stunden post coitum erreichen.“

Zabel (41) sagt: „Das ein Samenfaden sich ohne den Schwanz nicht fortbewegen kann, ist selbstverständlich. Es ist allerdings beobachtet worden, daß Spermatozoenköpfe, die das Verbindungsstück, das Hauptstück und das Endstück verloren haben, sich noch flimmernd bewegen können und zwar durch einen Ueberrest des Achsenfadens, der dem Halsstück entstammt. Durch die Untersuchungen von Peter ist bekannt, daß das Verbindungsstück allein für den Bewegungsvorgang als solchen verantwortlich zu machen ist. — Diese Vorwärtsbewegung, welche besonders gegen den Strom stattfindet und in der Minute 1,2—4 mm beträgt, verwandelt sich in eine bohrende, sobald der Kopf des Samenfadens auf ein Hindernis stößt.“

Windstoßer (39) glaubt, daß die Art der Ionen im Verdünnungsmittel für die Beweglichkeit der Samenfäden von großer Bedeutung ist. Danach vermutet er, daß die Art der Ionen im Nebenhodengangsekret eine andere ist als die der Hodenflüssigkeit.

Becher (4) spricht den Hormonen, speziell dem Hodenhormon, eine große Bedeutung für die Motilität der Spermien zu.

Runge (zitiert nach Lagerlöf, 17) hält den Samen schon für gesund, wenn er zahlreiche, sich lebhaft bewegende Spermatozoen findet. Die gleiche Ansicht vertreten v. Jaschke und Pankow (zitiert nach Lagerlöf, 17), Posner und Stöckel (desgl.).

Iwanoff (16) vertritt die Ansicht, daß Spermatozoen nach längerer Enthaltung unbeweglich oder wenig beweglich sein können, wobei ihre Lebenskraft unter der Norm steht.

Im folgenden soll kurz das Schrifttum der bis jetzt über die Untersuchung pathologisch veränderter Spermatozoen vorliegenden Ergebnisse betrachtet werden. Dabei ist zu beachten, daß

unter „pathologisch verändert“ auch stets solche Spermien mit einbezogen sind, welche man besser als atypisch bezeichnen würde, da sie nicht immer einen irgendwie krankhaften Zustand erkennen zu lassen brauchen.

Ballowitz 2) beobachtete doppelschwänzige Spermien im Deckglastrockenpräparat nur in sehr seltenen Fällen. Der Kopf war dabei sehr groß, die Insertionsstelle der Geißeln wurde jedoch nicht genauer beobachtet. Normalerweise sitzt der Schwanz auf einem am Kopf befindlichen Endknopf und löst sich nur mit diesem zusammen ab. „In der Nähe der Grenze findet sich an dem Verbindungsstück oft eine kugelige Protoplasmamasse.“

Römmele (32) sagt über diese Protoplasmamasse folgendes: „Gewöhnlich läßt sich die Wanderung des Plasmotropfens vom oberen bis zum unteren Ende des Verbindungsstückes beobachten, selten trifft man ihn weiter unten am Hauptstück des Schwanzes. Dies liegt sicherlich daran, daß das Hauptstück schwanzwärts zusehends dünner wird. Samenfäden, die noch einen Tropfen am Halstück trugen, rotierten nur.“ Römmele stellte bei Spermatozoen ohne den Tropfen immer eine bessere Beweglichkeit fest, wobei nach Merton (21) bei den meisten Tieren ein solcher Tropfen vorhanden sein soll. Bei osmotischen Schwankungen geht der Tropfen verloren, und dieses kann eine Schädigung der Spermatozoen bedeuten. Merton (21) nennt die Protoplasmotropfen „Kinoplasmakugeln“ oder „Basalzellenkugeln“, weil in den Samenmutterzellen und generativen Nähr- bzw. Basalzellen ursprünglich gleiche Potenzen betreffs Bildung von Bewegungsorganellen enthalten sind. Die Spermien mit Kinoplasmakugeln sind also noch unreif und sind daher für eine künstliche Besamung ungeeignet.

Broman (zitiert nach Ballowitz, 3) fand im Ausstrichpräparat vom Mann und auch vom Haifisch durchschnittlich 20 doppelschwänzige Spermatozoen mit sehr großem Kopf, aber normaler Form, wobei auch die Schwänze normal lang waren. Auch Ballowitz (3) hat sie regelmäßig festgestellt und mißt ihnen größte Bedeutung bei.

Nach Broman (6) wurden Riesenspermien beschrieben von v. Wiedersperg und v. Bardeleben beim Menschen und von Ballowitz bei Vögeln. Ferner wurden, zitiert nach Broman (6) beschrieben: Zwergspermien von Broman; zweischwänzige, einköpfige von Retzius, Cutler und Bertacchini beim Menschen und von Ballowitz bei Säugetieren; dreischwänzige, einköpfige von Cutler beim Menschen; zweiköpfige, einschwänzige von Cutler, Bertacchini, Maddox und Regaud beim Menschen; zweiköpfige, zweischwänzige von Cutler und Broman beim Menschen und von v. la Valette St. George beim Schaf; zweiköpfige, drei-

schwänzige von Cutler beim Menschen; und schließlich dreiköpfige, zwei- und dreischwänzige von Broman. Er hält das Vorkommen atypischer Spermien für physiologisch, da er sie bei mehreren völlig gesunden Patienten vorfand. Weiter gibt er eine sehr interessante Aufzeichnung über das Entstehen atypischer Spermien. So entstehen Riesen- und Zwergspermien aus Spermatozyten 2. Ordnung, deren Chromosomen nach den beiden Spindelpolen ungleich verteilt werden. Auf den Schnittpräparaten sind daher die Vorstadien der Riesenspermien immer in unmittelbarer Nähe von den Vorstadien der Zwergspermien zu finden. Das Verbindungsstück ist zuweilen bei Riesenspermien etwas dicker. Die zwei- bis vierschwänzigen, einköpfigen Spermien entstehen aus zwei-, drei- oder vierpoligen Mitosen von Spermatozyten 2. Ordnung, deren Zytoplasma sich nicht teilt. Wenn alle Chromosomen der betreffenden Mitose zusammenbleiben und von einer einzigen Kernmembran umschlossen werden, wird der Kopf der werdenden Spermie am größten. Wenn zwei oder mehr Kerne gebildet werden, von denen nur der eine mit den Schwanzfäden in Verbindung kommt, können zwei- oder mehrschwänzige Spermatozoen entstehen, deren Köpfe nur normal groß oder noch kleiner sind. Zwei- oder dreiköpfige Spermien entstehen aus Spermatozytenmitosen, die zu Kernteilung ohne nachfolgende Zytoplasmateilung führen. Wenn sich nun die Zentralkörperpaare und hiermit die Schwänze an zwei oder drei Kernen befestigen, entstehen Bildungen, welche — wenn sie bei der Zytoplasmaabschnürung von einander nicht freierwerden — zu zwei- oder dreiköpfigen Spermien werden können. Dies ist jedoch ein seltener Fall. Broman beobachtete weiter flaschenförmige Spermien, die er wegen ihrer Häufigkeit für physiologisch hält. Er beobachtete lang- und breithköpfige, solche mit dunklen Querbändern am Hinterkopf, verdickter oder gefalteter Kopfmembran und abnormer Vakuolenbildung am Kopf. Er schreibt: „Die Insertion des Schwanzes am Kopf kann abnorm sein. Die Länge des Schwanzes variiert im allgemeinen nur binnen sehr engen Grenzen.“ Riesenspermien haben nach v. la Valette St. George (zitiert nach Broman, 6) keine physiologische Bedeutung; nach Ballowitz (z. n. Broman, 6) sind Mißbildungen und Riesenwuchs möglich, nach Broman (6) gesteigerte väterliche Vererbung, (bei Zwergspermien dagegen vermindert). Mehrschwänzige und mehrköpfige Spermien sollen nach Cutler und Maddox (zitiert nach Broman, 6) teratologische Bildungen ermöglichen, nach Bertacchini (zitiert nach Broman, 6) sind auch Doppelmonstra und andere Mißbildungen möglich. Nach Ballowitz (zitiert nach Broman, 6) haben Riesenspermien hohe entwicklungsgeschichtliche Bedeutung für die

Entstehung von Doppelbildungen. Bei Befruchtung des Eies durch ein zweischwänziges Spermatozoon soll die Bildung von eineiigen Zwilligen möglich sein.

V. la Valette St. George (36) beschreibt ebenfalls die Feststellung eines Protoplastropfens und sagt darüber: „Bekanntlich sieht man an den meisten Samenkörpern des Hodens und Nebenhodens einen kleinen, sackförmigen Anhang, der, verschiedenen in seiner Ausdehnung, bald höher, bald tiefer am Faden fest sitzt. Es scheint dieser Anhang aus einer durchsichtigen Masse zu bestehen, in der kleine Körnchen eingebettet sind. Mit Kolliker sehe ich diese Gebilde als Reste der Mutterzelle an; ihre Bestimmung wird die sein, für das Auswachsen der Fäden das nötige Material herzugeben. — Daß die Köpfe oft unregelmäßig gestaltet sind, gebe ich gerne zu.“

Auch Retzius (28) spricht von oft vorkommenden Wechslungen und meint damit die doppelschwänzigen Spermien und die „körnigen Anhänge“.

Als ein weiterer beschreibt v. Wiedersperg (37) die Plasmastropfen mit den Worten: „Die Zellmembran, oder auch die Reste des Zellinhaltes, welche die Geißel umgeben, schwinden nun allmählich und sieht man sehr häufig an Samenkörpern kragenartige Zellhautreste die Geißel an ihrem Ursprung am Kopfe umgeben.“ Die beigegeführten Zeichnungen zeigen deutlich das Abwandern der Plasmareste vom Kopf nach dem Schwanz zu. „Abweichungen in der Form der Samenfasern sind übrigens im ejakulierten Sperma keineswegs etwas Seltenes. Geißeln mit ganz rudimentären Kopfbildungen sind auch keineswegs selten.“

Nach Redenz (27) kann man die Retspermien von denen des Nebenhodenschweifens nur an der Lage des Protoplastropfens unterscheiden, der vom oberen Ende des Verbindungsstückes und vom Halsstück nach dem unteren Ende des Verbindungsstückes abbrückt.

Cary (8) hat die protoplasmatischen Anhänge ebenfalls beobachtet: „I have seen cells in which the protoplasm still surrounded the nucleus in ordinary cellular type with an active tail piece of some length. The majority of them are motionless and are not viable.“

Cary (8) beobachtete außerdem verschiedene Abnormitäten des Kopfes, besonders häufig eine kleine Kopfform, ferner eine wie ein verdicktes Schwanzende aussehende Form, außerdem viele lose Köpfe. An Abnormitäten des Schwanzes stellte er mehrfach eine Abknickung hinter dem Kopf, rudimentäre Bildungen oder gänzlich abgefallene Schwänze fest.

Lespinasse (19) beobachtete folgende Bildungen: Stark vergrößerte Köpfe. U-förmige Biegungen des Schwanzes ohne Be-

wegung, ferner große Köpfe mit verdicktem Halsstück und kurzem Schwanz in schwacher Bewegung.

Donham (10) beschreibt eine runde Masse, die den Schwanz an einem bestimmten Punkt umgibt, und meint damit jedenfalls den vielfach beschriebenen Protoplasmatropfen. Von den sonst so oft beobachteten Abnormitäten der Spermatozoen hat er nichts bemerkt. Dagegen hat er in einigen Fällen die Beobachtung gemacht, daß mehrere Spermatozoen bewegungslos beieinanderliegen, so daß es sich um doppelköpfige oder doppelschwänzige Formen handeln könne; meiner Ansicht nach lag hier vielmehr eine Spermagglutination vor.

Diese wird von Stieve (34), der entsprechende Untersuchungen an einem unfruchtbaren Hahn angestellt hat, folgendermaßen beschrieben: „Die Samenflüssigkeit zeigte gewöhnliches Verhalten, sie enthält massenhaft lebhaft bewegliche Samenfäden. Zwischen diesen finden sich aber viele unreif abgestoßene Samenbildungszellen, des weiteren fallen einzelne Gebilde auf, die ähnlich wie Strahlenpilzdrüsen aussehen. — Sie bestehen aus einer großen Anzahl von Samenfäden, die mit den Köpfen zusammengebacken sind, ihre Schwänze ragen zum großen Teil frei in die Samenflüssigkeit und bewegen sich noch etwas. In einzelnen dieser Bildungen sind viele Hunderte von Samenfäden vereinigt, die keinerlei außergewöhnlichen Bau zeigen. Es handelt sich hier um bezeichnende Bilder von Samenverklumpung (Spermagglutination). — Bezeichnend für all diese Zellklumpen ist, daß sie offenbar einen gewissen Reiz auf die Samenfäden auszuüben scheinen. Man erkennt nämlich allenthalben, wie die Spermatozoen in sie eindringen.“ In dem Bestreben der Spermatozoen, in die abgestoßenen unreifen Samenbildungszellen einzudringen, sieht Stieve eine Schädigung: „Nur kranke Samenfäden verklumpen untereinander.“ Im Anschluß hieran sagt Eggers (zitiert nach Stieve, 34): „Samenzellenverklumpung ist also lediglich ein Beleg dafür, daß die Hoden überhaupt geschädigt sind, sie kann aber an sich keinen Anhaltspunkt dafür geben, welcher Art die Schädigung ist.“

V. Lanz (18) beschreibt ebenfalls ein Protoplasmatröpfchen und seine Wanderung. „Man kann z. B. bei dem menschlichen Ejakulat daran unterscheiden, woher die Spermien stammen. — Die Lage des Protoplasmatropfens am oberen Ende des Verbindungsstückes ist für die Nebenhodenkopfspermien nicht spezifisch. Sie ist abhängig von der Beanspruchung des Hodens und dem Nachschub junger Spermien.“

Toivola (35) sagt, daß nach Weber der Kopf der kranken Spermien kugelig, birnförmig oder halswärts zugespitzt und schwach färbbar ist.

Oppermann (24) glaubt, daß aufgerollte Schwanzstücke auf ein bereits ante coitum abgestorbenes Sperma hindeuten, während mangelhafte Ausbildung, ein geblähter Kopf oder matte Beweglichkeit auf Degenerationsvorgänge hinweisen.

Williams (38) beobachtete unreife Spermatozoen und ihre Vorläufer in sehr seltenen Fällen. Ferner wurden Köpfe festgestellt, die über normale Verhältnisse groß oder klein waren. Das Fehlen des Mittelstückes wurde nur im Falle einer stark pathologischen Spermiogenese beobachtet. In seltenen Fällen sollen Mittelstücke ohne Plasmahülle vorkommen. Williams beschreibt ebenfalls Plasmotropfen, die als „eosinophile bodies“ bezeichnet werden und bei der Spermiogenese ausgestoßenes Zytoplasma darstellen. Abgefallene Schwänze sollen hauptsächlich da vorkommen, wo Zusammenziehungen an der Basis des Kopfes vorliegen: die Trennung soll zur Zeit der Ejakulation stattfinden, wobei der Schwanz stets am Hals abbricht. Die Protoplasmotropfen wurden in 16.8% der Fälle festgestellt, jedoch nicht mit herabgesetzter Fertilität in Beziehung gesetzt. Epithelien, Blut, Fibrin und Bakterien, Staphylokokken und Streptokokken wurden ebenfalls beobachtet. Die beigegefügte Fotografie eines abaxialen Schwanzansatzes macht allerdings den Eindruck, als ob Kopf und Schwanz getrennt und nur zufällig in diese Lage gekommen wären, sonst aber nichts miteinander zu tun hätten.

Nach Lagerlöf (17) soll Retzius als erster die Protoplasmotropfen beschrieben und sie als Reservematerial der Spermien angesprochen haben. Lagerlöf hat, wie auch Williams und Savage (zitiert nach Lagerlöf, 17) Spermien mit doppeltem Kopf und doppeltem Verbindungsstück, aber ungeteiltem Schwanz nachgewiesen. Broman (zitiert nach Lagerlöf, 17) hat abnorme Spermienformen in wechselnder Frequenz bei ganz gesunden Männern gefunden. Unreife Spermien sind nach Lagerlöf solche, denen bei der Ejakulation noch der Protoplasmotropfen anhaftet. Römmele (zitiert nach Lagerlöf, 17) sagt, Bullenspermien haben bei der Ejakulation keinen Protoplasmotropfen mehr, während Redenz (zitiert nach Lagerlöf, 17) wieder das Gegenteil behauptet. Lagerlöf selbst beobachtete die Spermagglutination bei gesunden und schlechten Bullen, besonders aber bei letzteren.

In den folgenden Ausführungen soll kurz die Spermienzählung behandelt werden, welche nach Polowzow (26) zum erstenmal von Lode durchgeführt wurde.

Lode (20) selbst berichtet von den Spermienzählungen von Prevost und Dumas 1824 bei Fröschen. „Sie zählten auf einer geteilten Glasplatte die Spermatozoen eines Tröpfchens genau ab und suspendierten dasselbe in 8 Portionen Wasser derart, daß auf 1 ccm ca. 1—4 Spermatozoen kamen“, womit sie dann

Froscheier befruchteten, Leuckart (zitiert nach Lode, 20) machte 1849 ähnliche Versuche und behauptete, daß zur Befruchtung eines Eies 4 Spermatozoen nötig seien. Lode führte seine Spermienzählung mit dem Blutkörperchenzählapparat von Zeiß und Thoma durch, wobei er das Sperma 4—5fach mit einer 2%igen KOH-Lösung verdünnte. Zur weiteren Kenntlichmachung benutzte er einen Zusatz von 1%iger Methylenblaulösung oder von einer verdünnten Lösung von hypermangansaurem Kali. „Zur Zählung jeder Probe wurden mindestens 3 Tröpfchen der gewöhnlich 5fach verdünnten Samenflüssigkeit unter den bekannten Kautelen verwendet, so daß in der Regel die mittleren Zahlenwerte von fast 200 kleinen Quadraten der Zählplatte ermittelt wurden.“ Die an käuflich erworbenen Kondominhalten bestimmte Spermienzahl betrug also für den Menschen 23 000 bis 135 000 pro cmm bei einem Durchschnitt von ca. 70 000.

Richter (30) sagt: „Endlich weiß man, daß das Sperma von Gesunden ebensowohl wie von Leuten, die eine Epididymitis und dergl. überstanden haben, temporär oder konstant frei von Samenfäden sein kann.“ Florence in Lyon (zitiert nach Richter, 30) beschäftigte sich weniger mit der Zählung an sich, sondern mit dem Nachweis von Sperma überhaupt. Er verwandte eine Lösung von 1,65 g Jod und 2,54 g Jodkalium auf 30 g Wasser, gab einen Tropfen dieser Lösung zu einem Tropfen eines wässerigen Auszuges aus einem Spermafleck und erhielt dann braun gefärbte mikroskopische Kristalle, die den Häminkristallen außerordentlich ähnelten. Jedoch hat diese Methode nur für die Humanmedizin einen speziell forensischen Wert.

Nach Cary (8) beschreibt Ultzmann Sperma, in welchem die Spermienzahl stark herabgesetzt ist; es ist dies vor allem das wässerige Sperma, in welchem Sedimentierung und frühzeitige Kristallbildung zu finden sind; ferner beschreibt er Samen, welcher Epithelien enthält. Kehrler (zitiert nach Cary, 8) stellte in 21,3% von Sterilitätsfällen Azoospermie infolge Gonorrhoe als Ursache fest. Eine andere Ursache ist Erschöpfung infolge Ueberbeanspruchung der Geschlechtsorgane (exhaustion du to abnormal demands upon the sexual organs); in diesen Fällen ist die Sterilität oder Azoospermie physiologisch und temporär.

Zabel (41) sagt: „Beim Auftreten kranker Spermien ist die Zahl der Regel nach vermindert, die Abnahme kann sich bis zur Azoospermie steigern.“

Bernhardt (5) führte die Spermienzählung beim Hengst in der folgenden Weise durch: Er brachte in ein Mischkölbchen 5 ccm Hayemsche Lösung, dazu 1 ccm Samen, schüttelte gut durch und brachte dann diese Suspension mit dem Tropfenzähler in die Bürkersche Zählkammer, in welcher 80 kleine Qua-

drate ausgezählt wurden. Wenn Bruchstücke von Samenfäden in den abgegrenzten Zählraum hineinragten, so wurden sie als ganze mitgezählt, falls der größere Teil der Samenkörperchen innerhalb des Zählraumes lag. „Sonst scheint die Zahl der Samenfäden im cmm zwischen 120- 150 000 zu schwanken.“

Lagerlöf (17) gibt ebenfalls die Spermienzählung mit dem Bürkerschen Hämacytometer an. Er verdünnte mit 2%iger KOH-Lösung im Verhältnis 1 : 100 bei starker Spermienkonzentration und 1 : 10 bei schwacher; mit dieser Lösung wurde die Verdünnungspipette zu zwei Drittel gefüllt und nach genügendem Schütteln mit einer 1%igen Methylenblaulösung vollkommen aufgefüllt. Es wurden in diesem Fall 60 Felder gezählt, wobei die Zählung eine Spermienzahl von ca. 300 000 bis zu 2 Millionen pro cmm (beim Bullen) ergab. Wie schon bereits erwähnt, haben Lode und Amantea, Moench und Holt (zitiert nach Lagerlöf, 17) festgestellt, daß beim Mann z. B. infolge häufigen Beischlafes innerhalb kurzer Zeitabstände die Spermienzahl bald bis auf Null herabsinkt, während beim Bullen, wie ich durch meine Untersuchungen zeigen konnte, ein solcher Einfluß nicht zu bemerken ist. Dagegen gibt Lagerlöf (17) verschiedene pathologische Hodenveränderungen an, welche die Spermienzahl erheblich beeinflussen. So fanden sich bei hypoplastischen Hoden, degenerativen Veränderungen und fibrosis testis überhaupt keine Spermien mehr, während bei entzündlichen Hodenveränderungen nur noch 50 000—20 000 Spermien gezählt wurden. Lagerlöf sagt dann weiterhin: „Aus den Untersuchungsergebnissen geht hervor, daß sich die Spermienzahl bei Bullen mit gutem Befruchtungsvermögen in der Regel zwischen 300 000 und 1 200 000 oder durchschnittlich auf ungefähr 800 000 pro cmm hielt“.

Feiling (12) hat eine Methode der Spermienzählung benutzt, deren ich mich ebenfalls bediente. Ich werde daher bei der Ausführung über meine eigenen Untersuchungen Gelegenheit nehmen, hierüber ausführlich zu berichten.

Schließlich wäre jetzt noch einiges über verschiedene Arbeiten zu sagen, welche sich mit Untersuchungen von *trichomonas genitalis bovis* befassen. Das Schrifttum hierüber ist so zahlreich, daß es im Rahmen dieser Arbeit zu weit führen würde, jede einzelne Arbeit einer Würdigung zu unterziehen. Besonders im Auftrage der Geburtshilflichen und Ambulatorischen Veterinärklinik zu Gießen und von ihrem Leiter, Herrn Prof. Dr. Küst, selbst wurden zahlreiche Untersuchungen angestellt, die sich jedoch alle mehr oder weniger mit dem weiblichen Tier beschäftigen, während die Untersuchungen am Bullen in vollem Gange und zur Zeit noch nicht abgeschlossen sind. Ich werde daher aus der Fülle der Arbeiten diejenigen herausgreifen, welche

zum Verständnis der vorliegenden Arbeit speziell geeignet erscheinen.

So kommt Haupt (14) auf Grund seiner Untersuchungen zu der Annahme, daß der humane Typ von *trichomonas vaginalis* nichts weiter ist als ein harmloser Parasit der gesunden und kranken Scheide, wobei er als untere Wärmegrenze für diese Trichomonaden 16—18° C angibt. Nach Wille (zitiert nach Haupt, 14) sind sie in 30—40% aller, auch gesunder Scheiden vorhanden.

Witte (40) hat mit Trichomonaden des Rindes gearbeitet und ein üppiges Wachstum von Reinkulturen in Bluthouillon, Serum-bouillon und anderen Nährböden festgestellt. Nach Abelein (zitiert nach Witte, 40) sind die Trichomonaden die Ursache der Frühaborte und nicht der Bläschenausschlag. Nach Weidenauer (zitiert nach Witte, 40) kommen die Trichomonaden lediglich im krankhaft veränderten Uterussekt vor, wobei ihre Pathogenität noch nicht entschieden sein soll. Trichomonaden ohne beigemischte Bakterien sind in Rinderfeten festgestellt worden von Drescher, Pfenninger, Riedmüller und Abelein (sämtlich zitiert nach Witte, 40). „Auch nicht befruchtete Tiere können regelmäßig und lange Zeit Trichomonaden ausscheiden.“ Nach Riedmüller und Weidenauer (zitiert nach Witte, 40) siedeln sich Trichomonaden sekundär dort an, wo bereits eine primäre Schädigung der Gewebe vorliegt. Dasselbe sagt Winter für die menschliche Trichomonade. Witte (40) sagt weiter: „Auf Grund der Versuche wird der Schluß gezogen, daß die Trichomonaden im Kleinterversuch deutlich eine pathogene Wirkung entfalten, die besonders auffällig nach vaginaler Infektion nachgewiesen werden konnte; diese Infektion entspricht aller Wahrscheinlichkeit nach der natürlichen beim Rind.“

Abelein (1) selbst ist ebenfalls der Ansicht, daß eine Schädigung der Genitalien die Entstehung der Trichomonadenseuche unterstützt. Als Sitz derselben wird lediglich für den Bullen das Präputium angegeben. Hauptwert ist daher auf die Vermeidung der Deckinfektion zu legen, da Trichomonaden in der freien Luft nicht vorkommen. „Die Vaginaltrichomonade des Weibes gefährdet das Rind wohl auch nicht.“ Abelein glaubt nicht an einen großen Erfolg bei Spülungen des Präputialsackes, welcher nach den bisherigen Erfahrungen der einzige Aufenthaltsort der Trichomonaden beim Bullen sein soll, weil die Schleimhaut zu stark gefaltet sei und deshalb eine günstige Wirkung von Medikamenten verhindere. Er empfiehlt daher als wirksamen Schutz gegen die Verbreitung der Seuche die künstliche Besamung unter Ausschaltung der direkten geschlechtlichen Berührung.

Feiling (12) hat bei seinen Samenuntersuchungen in den Ejakulaten Trichomonaden festgestellt und kommt auf Grund dieser Befunde zu folgendem Urteil: „Samen von der Infektion mit *trichomonas genitalis bovis* verdächtiger Bullen muß wiederholt eingehend nach der oben angegebenen Weise auf diese Infektionserreger untersucht werden, bevor er zur künstlichen Besamung verwandt werden darf. Wird auch nur eine einzige Trichomonade im Samen eines Bullen festgestellt, so ist das Tier als Samenspender auszuschalten. Ich habe die Beobachtung machen können, daß zwei Kühe, die bei der Untersuchung als gesund befunden und künstlich besamt worden waren, infolge Trichomonadeninfektion abortierten. In den Föten und Eihäuten wurden die Protozoen in reichlicher Menge nachgewiesen. In beiden Fällen konnte ich bei den Stieren, die das Sperma zu diesen Besamungen geliefert hatten, einwandfrei Trichomonaden im Ejakulat nachweisen. Unterschiede in der Qualität des Samens gesunder und mit *trichomonas genitalis bovis* infizierter Bullen waren nicht zu beobachten.“

3b) Methodik der Untersuchung.

Nach der Durchführung der makroskopischen Untersuchung brachte ich mit einem gut gereinigten Glasstab etwas unverdünntes Sperma auf einen ebenfalls sauberen Objektträger und bedeckte es mit einem der allgemein gebräuchlichen Deckgläschen, während ich gleich daneben auf demselben Objektträger einen kleinen Tropfen Sperma mit einer von den Russen viel verwandten Phosphatlösung verdünnte und in der gleichen Weise bedeckte. Da eine Untersuchung bei schwacher Vergrößerung meiner Ansicht nach nur einen allgemeinen Ueberblick bieten kann, untersuchte ich meist sofort bei starker Vergrößerung und gut geschlossener Blende. Daher halte ich auch ein Mikroskop mit verstellbarem Objektisch für unerlässlich, da sich sonst Beobachtungen von einzelnen Spermatozoen kaum oder nur mit großen Schwierigkeiten ermöglichen lassen. Die Untersuchung bei künstlichem Licht bietet keine besonderen Vorteile, sofern die natürlichen Beleuchtungsverhältnisse nicht gerade ungünstig sind. Zum Zwecke der Feststellung pathologischer Formen oder zur Erkennung besonderer Einzelheiten empfehle ich jedoch stark zu verdünnen, da sonst infolge der dem Bullensperma eigentümlichen starken Spermienkonzentration Irrtümer in der Beurteilung leicht möglich sind. Ich halte diese Untersuchungsmethode, wie auch andere Autoren, für die beste, weil sie wegen ihrer Einfachheit in der Praxis leicht durchführbar ist und man sich auf diese Weise die Qualität des Spermas in

allen ihren Einzelheiten unbeeinflusst und in ihrer wahren Beschaffenheit vor Augen führen kann.

3e) Beweglichkeit der Spermien.

Die Beweglichkeit der Spermien ist in hohem Maße davon abhängig, wie hoch die Spermienkonzentration ist, d. h. also von der Anzahl der Spermatozoen in der Kubikeinheit. Der Eindruck, den das mikroskopische Bild des unverdünnten Spermas bietet, kann daher ein sehr verschiedener sein. Bei einem Sperma von mindestens durchschnittlicher Qualität ist zunächst nichts weiter zu erkennen als eine gleichmäßig flimmernde und wogende Masse, welche zeitweise eine gewisse Strömungstendenz erkennen lassen kann. Nur zuweilen, wenn an der einen oder anderen Stelle eine Auflockerung des Ganzen stattfindet, läßt sich erkennen, daß hier eine nach Tausenden zählende Menge von mikroskopisch kleinen Lebewesen, eben der Spermatozoen, mit ameisenartiger Geschäftigkeit ihren Weg sucht. Andererseits, und das ist in erster Linie bei besonders stark konzentriertem Sperma der Fall, kann man dagegen die Beobachtung machen, daß das Ganze sich nur in einer trägen Bewegung befindet, die oft kaum noch als eine solche bezeichnet werden kann. Ist jedoch durch Zufall in einem solchen Präparat eine Luftblase mit unter das Deckglas gekommen, so kann man erkennen, wie am Rande derselben sich ein wahrer Sauerstoffhunger bemerkbar macht, der sich in einer auffälligen Steigerung der Bewegungsintensität äußert. Jedenfalls zeigt sich schon bei der ersten Betrachtung, daß wir bei den Untersuchungen unverdünnten Spermas die verschiedensten Grade der Beweglichkeit feststellen können. Ich habe daher die Zahl der beweglichen Spermien und die Bewegungsintensität im einzelnen durch bestimmte Zeichen und Zahlen, bezw. Noten gekennzeichnet, welche im Schrifttum schon mehrfach Anwendung gefunden haben und daher aus Zweckmäßigkeitsgründen beibehalten werden sollen. Ich möchte jedoch an dieser Stelle einmal darauf hinweisen, daß man die betreffenden Zeichen, welche das Bewegungsvermögen, bezw. -Unvermögen ausdrücken sollen, es handelt sich um + (Plus) und — (Minus), doch besser umgekehrt gewählt hätte, so daß also „+“ die Beweglichkeit und „—“ die Unbeweglichkeit bezeichnet. Ich möchte andererseits Bezeichnungen, die bereits in das Schrifttum aufgenommen sind, nicht mehr ändern und benenne daher die einzelnen Bewegungsgrade wie folgt:

- — — — — sämtliche im Gesichtsfeld vorhandenen Spermatozoen sind beweglich;
- + — — — — 75% der Spermatozoen sind beweglich;

male Bewegung und die Beeinflussung der Bewegung durch verschiedene Umstände.

Die normale Bewegung läßt sich am besten erkennen an einem Spermatozoon, das sich mit der Note 3 bewegt. Hierbei sieht man eine wellenförmige Bewegung über den ganzen Samenfaden verlaufen, welche unmittelbar hinter dem Kopf ihren Anfang nimmt und sich in ihrer Wirkung bis zum Schwanzende erstreckt. Dabei schlägt der Kopf jedesmal in der der Anfangswelle entgegengesetzten Richtung aus. Erfolgt also diese erste Bewegungswelle nach links, so schlägt der Kopf nach rechts aus und umgekehrt. Dadurch nun, daß diese Pendelbewegungen zeitlich sehr rasch aufeinander erfolgen, entsteht die Vorwärtsbewegung, wobei die einzelnen Bewegungswellen wohl kleiner, aber intensiver werden und der Kopf als passiver Teil gewissermaßen vorwärtsgeschoben wird. Ueber den Sitz des Bewegungszentrums herrschten bis vor einiger Zeit noch die verschiedensten Ansichten. Man scheint sich jedoch jetzt darüber einig zu sein, daß hierfür nur das Verbindungsstück in Frage kommt. Welcher Art allerdings die genaueren Vorgänge sind, die zu der beschriebenen Bewegung führen, darüber ist das letzte Wort noch nicht gesprochen. Ich selbst neige am meisten der Ansicht zu, daß hier protoplasmatische Quellungsvorgänge, hervorgerufen durch chemische Einflüsse, eine gewisse Rolle spielen. Vielleicht darf man auch hinsichtlich der Reaktionsfähigkeit des Protoplasmas, speziell des Verbindungsstückes, eine wechselseitige Differenzierung annehmen. Die Bewegung erfolgt nun weiter in der Weise, daß der platte Spermienkopf sich in der Bewegungsrichtung horizontal einstellt und daher seine charakteristischen Konturen bei richtiger Handhabung des Mikroskopes stets gut erkennen läßt. Die Bewegungsrichtung verläuft bei normaler Bewegung fast geradeaus und wird nur geändert, wenn irgendwelche Hindernisse im Wege liegen. Rotierende Bewegung, wie sie zuweilen beschrieben wird, habe ich nur ganz selten beobachten können. In diesem Falle war jedoch der Schwanz geradegestreckt und vollkommen bewegungslos, während das Spermatozoon sich unter langsamer Rotation um die Längsachse gemächlich vorwärtsbewegte. Ich halte indessen diese Bewegung nicht für physiologisch, jedenfalls solange nicht, als sich die Spermatozoen noch außerhalb des weiblichen Genitaltrakts, bezw. in einer ziemlichen Entfernung von dem zu befruchtenden Ei befinden. Die normale Bewegung erfolgt also unter lebhaft schlängelnden Schwanzbewegungen bei horizontaler Einstellung des Spermienkopfes in gerader Richtung.

Im Gegensatz hierzu steht die anormale oder pathologische Bewegung. Eine Herabsetzung der Bewegungsintensität, das

möchte ich gleich betonen. muß nicht immer in einem ursächlichen Zusammenhang mit pathologischen Veränderungen stehen. Dagegen finden wir verschiedene Bewegungstypen, welche von der Norm zum Teil beträchtlich abweichen. So sieht man häufig, daß sich Spermatozoen, in erster Linie solche, die noch einen Protoplasmatropfen besitzen, nach rechts oder links im Kreis bewegen. Der Radius dieses Kreises kann ganz verschieden groß sein und ist offenbar umso kleiner, je größer die Schädigung ist, die das betreffende Spermatozoon erfahren hat. Daher konnte ich auch beobachten, daß Spermien mit einem sehr kleinen Aktionsradius fast regelmäßig stark begebogene Schwänze aufzuweisen hatten, was bei solchen, die einen größeren Kreis beschrieben, nicht in dem Maße der Fall war. Ich bin geneigt, diese Erscheinungen ebenfalls mit der bereits oben erwähnten Protoplasmaquellung in Zusammenhang zu bringen, und zwar derart, daß das Protoplasma, das die Spirale des Verbindungsstückes umgibt, nur noch auf einer Seite zu einer Quellung fähig ist, auf der anderen dagegen nicht. Das Spermatozoon ist also, wenn ich einmal so sagen darf, einseitig gelähmt und kann infolgedessen nur noch die sogenannte Manegebewegung ausführen. Eine andere Bewegungsanomalie ist die folgende: Der Schwanz der Spermie ist so weit umgebogen, daß das Schwanzende das Verbindungsstück oder sogar den Kopf berührt. Die Bewegung erfolgt in diesem Fall ebenfalls im Kreis, jedoch im umgekehrten Sinne, also nach rückwärts. Ich erkläre mir das damit, daß der leichtere und jetzt sozusagen verkleinerte Schwanz eher von den Strömungen der umgebenden Flüssigkeit herumgeworfen wird als die Masse des Kopfes mit ihrem größeren Beharrungsvermögen, die nur langsam nachfolgen kann.

Noch deutlicher wird der Vergleich, wenn man etwa an einen achtern besetzten Kanadier denkt, dessen Bug weit aus dem Wasser herausragt und von einem Windstoß herumgerissen wird; selbst bei sofort eintretender Windstille wird das Boot sich noch längere Zeit im Kreis bewegen, und zwar immer mit dem unbesetzten, also leichteren Bug voraus. Bei den Spermatozoen kommt jedoch dann infolge der umgekehrten Verhältnisse von vorn und hinten eine Rückwärtsbewegung zustande. Die Beobachtung dieser Erscheinung konnte ich nicht so häufig machen wie die der zuvor beschriebenen. Weiterhin finden sich im Schrifttum Beobachtungen über die Bewegung loser Köpfe oder Schwänze, die ich jedoch mit einer gewissen Vorsicht aufnehmen möchte. Ich habe zwar ebenfalls die Feststellung machen können, daß Köpfe, welche von den Schwänzen getrennt waren oder umgekehrt, sich noch in zitternder Bewegung befanden, glaube aber, daß diese Bewegung mehr passiver Natur ist. Eine

Eigenbewegung von losgelösten Schwänzen halte ich dagegen schon eher für möglich, und zwar mit Rücksicht darauf, daß ja das Verbindungsstück als Bewegungszentrum anzusehen ist und sich fast stets in Verbindung mit dem übrigen Teil des Schwanzes vom Kopf ablöst.

Auf das Gesamtspermabild üben jedoch die Spermatozoen mit pathologischer Bewegung infolge ihrer Seltenheit kaum einen nennenswerten Einfluß aus. Dagegen wollen wir nun verschiedene Momente ins Auge fassen, welche bei der Beurteilung der Beweglichkeit von Spermatozoen zu berücksichtigen sind.

Wie ich schon betonte, spielt hierbei die Konsistenz des Spermas in Verbindung mit der Spermienkonzentration eine Rolle. Es ist z. B. möglich, daß die Spermien eines dünnen Ejakulates eine sehr lebhafteste Beweglichkeit entfalten, die jedoch zumeist als eine vorzeitige Energieverschwendung zu beurteilen ist, da die Spermien in einem solchen Sperma ihre hohe Bewegungsintensität nur kurze Zeit beibehalten und dann zugrundegehen. Analog findet man in stark konzentriertem Sperma häufig nur eine geringe Bewegungsintensität vor, für die vielfach außer der rein räumlichen Beengung vor allen Dingen der erhöhte Sauerstoffverbrauch und die damit verbundene Kohlensäureanreicherung als Ursache angegeben wird. Ich erinnere in diesem Zusammenhang noch einmal an die Erscheinung des Sauerstoffhungers der Spermatozoen in hochkonzentriertem Sperma, wonach die Zufuhr von Sauerstoff etwa in Form von Luftblasen sofort eine wesentliche Steigerung der Bewegungsintensität hervorruft. Den gleichen Effekt kann man erzielen, wenn man mit geeigneten Lösungen, also beispielsweise mit der genannten Phosphatlösung, verdünnt. In der Tat zeigte sich, wie außerdem aus der Tabelle auf Seite I u. II ersichtlich ist, fast ausnahmslos nach der Verdünnung eine wesentliche Verbesserung der Beweglichkeit. Wo diese nicht eintrat, zeigte das Sperma regelmäßig eine dünne, wässrige Beschaffenheit, welche sich besonders in einem verhältnismäßig hohen pH-Wert auszudrücken pflegte. Ich halte daher Ejakulate, in welchen sich die Beweglichkeit der Spermatozoen durch Verdünnung nicht mehr steigern läßt, für ungeeignet für die künstliche Besamung. Eine Lösung, nach deren Zusatz zum Sperma die Beweglichkeit der Spermatozoen schlagartig sistiert, ist, z. B. die später noch zu besprechende Hayem'sche Lösung.

3d) Pathologisch veränderte Spermien.

Zu Beginn dieses Abschnittes möchte ich betonen, daß ich unter der Bezeichnung „pathologisch verändert“ alle die Spermatozoen verstehe, welche in ihrer Struktur oder sonstigen Be-

schaffenheit irgendwie von der Norm abweichen und infolgedessen zum großen Teil zweckmäßiger als „atypisch“ bezeichnet werden könnten. Ich habe hier ebenfalls die bereits gebräuchlichen Bezeichnungen beibehalten und die Veränderungen folgendermaßen in Gruppen eingeteilt, welche auch in der Tabelle auf Seite I u. II dementsprechend angeführt sind:

1. Größenabweichungen (Zwerg- und Riesenspermien).
2. Spermien mit mehreren Köpfen oder Schwänzen.
3. Abnorme Kopfformen.
4. Lose Köpfe.
5. Abnorme Schwanzformen.

1. Größenabweichungen, also Zwerg- und Riesenspermien, konnte ich nur bei intensivster Durchmusterung des Präparates in sehr seltenen Fällen beobachten. Der Unterschied zwischen diesen und normalen Spermien besteht lediglich darin, daß bei den abweichenden Formen eine Vergrößerung oder Verkleinerung des Kopfes vorliegt, wobei jedoch die äußeren Umrisse die gleichen bleiben und auch der Schwanz die Länge einer ganz normalen Spermie aufweist.

2. Spermien mit mehreren Köpfen konnte ich bei meinen Untersuchungen nicht feststellen, solche mit zwei Schwänzen in drei Fällen. Bei diesen waren die beiden Schwänze in gleichen Abständen von der Medianlinie am Hinterkopf angesetzt. Die äußere Struktur war sonst die gleiche wie bei normalen Spermien, desgleichen die Bewegung. Ich möchte aber auch hier empfehlen, die Diagnose nur nach der allergeauesten Beobachtung zu stellen, da es nicht selten vorkommt, daß Spermatozoen sich so zusammenlegen, daß bei oberflächlicher Betrachtung leicht der Eindruck der Doppelschwänzigkeit entsteht. Ich halte Spermien mit mehreren Köpfen oder Schwänzen, soweit es den Bullen betrifft, für eine sehr seltene Erscheinung.

3. Abnorme Kopfformen sind schon etwas häufiger zu beobachten. Der Kopf kann dabei mancherlei Gestalt annehmen. Am meisten konnte ich in dieser Beziehung eine eigenartige Deformation feststellen, welche dem Spermienkopf ein geschrumpftes und stacheliges Aussehen verlieh. Diese Spermien waren stets bewegungslos. Andere Spermien zeigten die verschiedenartigsten Abweichungen bezüglich der Kopfform: Vielfach waren die Köpfe lang und schmal, dann wieder mehr rund, ferner birnen- oder flaschenförmig. Alle diese Typen ließen in ihren Lebensäußerungen jedoch keine Abweichungen erkennen.

4. Die losen Köpfe bildeten in manchen Ejakulaten eine sehr häufige Erscheinung, und zwar fanden sie sich in dünnen

Ejakulaten häufiger als in stärker konzentrierten. In einem Fall konnte ich einen Spermatozookopf beobachten, der an seinem Hinterteil zwei freistehende Zapfen erkennen ließ, die ich als Reste einer bestandenen Doppelschwänzigkeit ansprechen möchte. In allen anderen Fällen war dagegen von irgendwelchen Schwanzresten nichts mehr zu bemerken, was übrigens mit den Ansichten von Ballowitz (3), bezw. Williams (38) übereinstimmt, wonach der Schwanz sich stets direkt am Kopf ablöst oder, wie Ballowitz (3) sagt, er löst sich nur zusammen mit dem am Kopf befindlichen Endknopf ab. Bezüglich der Beweglichkeit losgelöster Köpfe und Schwänze habe ich mich bereits geäußert.

5. Die weitaus häufigsten und in keinem Ejakulat fehlenden Abnormitäten sind die des Spermien Schwanzes. Hier kommen die verschiedensten Veränderungen vor. Einmal kann der Schwanz spiralig aufgerollt sein, wobei die Aufrollung nur die Schwanzspitze oder das Schwanzende bis zum Verbindungsstück oder den ganzen Schwanz bis zu seinem Ansatz am Kopf betreffen kann. Weiter kann der Schwanz in allen denkbaren Graden umgebogen sein, so daß schließlich das Schwanzende über den Kopf zu liegen kommt. Die dritte Möglichkeit ist die, daß der Schwanz den Kopf vollkommen umschlungen hat. Ferner können Knickungen vorliegen, jedoch nur am Schwanzansatz oder am Ende des Verbindungsstückes. Schließlich kann noch das Verbindungsstück verdickt sein oder der Schwanz ganz fehlen. Alle diese Abnormitäten konnte ich zur Genüge beobachten, über die Beweglichkeit derselben habe ich bereits berichtet.

Eine weitere Abnormität von besonderer Art stellen diejenigen Spermatozoen dar, welche noch einen Protoplasmatropfen besitzen, und zwar insofern, als sie als unreife Spermien zu gelten haben und daher für eine Befruchtung nicht in Frage kommen können. Bei diesen Spermatozoen kann man häufig Bewegungen beobachten, die offenbar die Abstoßung des Protoplasmatropfens bezwecken sollen. Ferner zeigen sie häufig die bereits beschriebene Manegebewegung.

3e) Spermienzählung.

Als Spermienkonzentration gilt die Anzahl der Spermien in einer bestimmten Kubikeinheit. Konzentration und Zahl stehen daher in engster Beziehung zueinander. Während ich nun die Spermienkonzentration bei der makroskopischen Untersuchung oder durch die mikroskopische im unverdünnten Präparat lediglich durch Schätzung bestimmte, konnte ich mit Hilfe des Bürkerschen Hämacytometers die Anzahl der Spermien in

einer bestimmten Spermamenge ziemlich genau feststellen. Bei meinen Untersuchungen habe ich zunächst lediglich Zeichen wie + und -- zur Angabe der Konzentration verwandt, später jedoch die genaue Zahl der Spermatozoen in Millionen pro cmm angegeben. In der Tabelle auf Seite I u. II finden sich dementsprechend beide Angaben nebeneinander:

++++	= 0.8 bis über 2 Millionen Spermien pro cmm.
+++	= 0.2 bis über 0.8 Millionen Spermien pro cmm.
++	= 60 000 bis 0.2 Millionen Spermien pro cmm.
+	= vereinzelt bis zu 60 000 Spermien pro cmm.
----	= vollkommenes Fehlen der Spermien pro cmm.

Die Zählung selbst habe ich in der folgenden Weise durchgeführt. Zunächst wurden die Glasgeräte, wie Pipetten, Deckglas und vor allen Dingen die Zählkammer gut mit Aether gereinigt. Infolge der hohen Spermienzahl des Bullen ist nun die Anwendung der Bernhardschen Methode, wie sie bei Hengsten durchgeführt werden kann, nicht zweckmäßig. Ich habe mich daher einer Methode bedient, die auch Feiling (12) angewandt hat. Danach wurde das künstlich gewonnene Sperma mit Hayemscher Lösung verdünnt, welche sich aus den folgenden Bestandteilen zusammensetzt:

Natriumsulfat	5,0
Kochsalz	1,0
Sublimat	0,5
aqua dest.	200,0

Von dieser Lösung wurden 4975 cmm mit einer Pipette aufgesaugt und in ein Glasgefäß gebracht, in welches ebenfalls 25 cmm der zu untersuchenden Spermamenge eingefüllt wurden. Beide Substanzen wurden gut miteinander vermischt und dann ein Tropfen dieser Suspension in die inzwischen mit einem Deckglas bedeckte Zählkammer gebracht. Das Deckglas muß jedoch derart auf die Zählkammer aufgeschoben werden, daß infolge der Adhäsion die bekannten Newtonschen Ringe entstehen. Die auf diese Weise vorbereitete Zählkammer wird nun unter das Mikroskop gebracht und bei gut geschlossener Blende so im Gesichtsfeld eingestellt, daß die Kanten der einzelnen Quadrate zu dem Querdurchmesser des mikroskopischen Gesichtsfeldes in einem Winkel von 45° verlaufen. Alsdann wird die obere Ecke des Gesamtquadrates eingestellt und von hier aus die Zählung vorgenommen. Durch eine entsprechende Einteilung ist die Kante der Zählkammer so gestaltet, daß sich durch die verschiedenen Schnittlinien 13 kleine Quadrate ergeben. Das große Zählkammerquadrat enthält also insgesamt 13 Reihen mit je 13 kleinen Quadraten, von denen nun 6 Reihen vollständig und von der 7. Reihe die ersten beiden Quadrate,

angefangen, wie schon erwähnt, an der äußersten oberen Ecke. durchgezählt werden. Um nun die Zählung möglichst genau durchzuführen, ist es angebracht, einzig und allein die Spermienköpfe in Betracht zu ziehen und in diesem Fall die Schwänze als nicht vorhanden anzusehen, da sich sonst bei der Zählung zu leicht Ungenauigkeiten ergeben. Ferner habe ich auch bei der Zählung der Köpfe stets ein ganz bestimmtes Schema eingehalten. So wurden gezählt:

1. Köpfe, welche einwandfrei im Quadrat lagen, ohne dessen Kanten irgendwie zu berühren.
2. Köpfe, welche die rechte obere und untere Kante des Quadrates, das ja auf einer Ecke steht, von innen oder außen noch berührten. Die Köpfe wurden jedoch nicht mitgezählt, falls sie die linke obere oder untere Kante oder deren Verlängerung noch mitberührten. Nicht gezählt wurden also diejenigen Spermien, welche die beiden linken Kanten irgendwie berührten oder deren Köpfe mit dem betreffenden Quadrat in keinerlei Berührung standen, wenn auch ihre Schwänze im Quadrat lagen.

Ich glaube, daß sich auf diese Weise eine möglichst große Genauigkeit erzielen läßt und halte daher diese Methode der Spermienzählung für sehr geeignet. Ich zählte in der angegebenen Art 80 kleine Quadrate durch, notierte die in jeder Reihe erhaltene Zahl der Spermienköpfe und addierte dann am Schluß die verschiedenen Werte. Die Umrechnung auf den cmm, bzw. ccm, erfolgte dann nach der Methode der Bürkerschen Blutkörperchenzählung, jedoch mit der Vereinfachung, daß ich eben 80 kleine Quadrate auszählte und dann die erhaltene Summe sofort mit 10 000 multiplizierte, so daß ich sogleich die Zahl der Spermatozoen in Millionen pro cmm des betreffenden Ejakulates erhielt.

Bei meinen Untersuchungen erhielt ich Zahlenwerte von sehr verschiedener Höhe. Immer konnte ich jedoch die Feststellung machen, daß zwischen Farbe und Konsistenz des Spermas einerseits und der Spermienzahl andererseits ein inniger Zusammenhang bestand, der sich in einer sinkenden Spermienzahl bei abnehmender Konsistenz des Spermas auszudrücken pflegte. So erhielt ich bei einem Ejakulat von wässriger Konsistenz und bräunlicher Farbe eine Spermienzahl von 0.06 Millionen pro cmm. Bei einem weißen und sahnigen Ejakulat konnte ich dagegen die außerordentlich hohe Zahl von 2,53 Millionen Spermien feststellen. Zwischen diesen beiden Extremen fanden sich alle Uebergänge. Von einem gewissen Einfluß auf die Spermienzahl ist ferner der pH-Wert des betreffenden Spermas, über den ich in einem besonderen Kapitel noch sprechen werde.

Ich möchte nur jetzt schon andeuten, daß bei steigendem pH-Wert eine absinkende Tendenz der Spermienzahl zu beobachten ist. Jedenfalls kann man auch schon auf Grund der makroskopischen Untersuchungen einen gewissen Rückschluß auf die Spermienzahl, bzw. die Konzentration ziehen. Einer besonderen Berücksichtigung bedarf allerdings die Spermienzahl, die sich nach häufig ausgeführten Samenentziehungen ergibt. Die Spermamenge kann sich hierbei zwar auf gleicher Höhe halten oder sogar noch ansteigen, wie oben schon ausgeführt wurde. Die Spermienzahl in der Kubikeinheit wird dagegen bei häufigeren, während mehrerer Tage fortlaufend durchgeführter Ejakulationen in starkem Maße herabgesetzt. Das zeigt sich deutlich in den Fällen 72–78. Hier betrug die Spermienzahl in dem frisch gewonnenen Ejakulat des ersten Tages 0,75 Mill. pro cmm. Am darauffolgenden Tage wurden zwei Ejakulate gewonnen, von denen das erste zwar 1,24 Mill. betrug, das zweite jedoch schon auf 0,40 Mill. herabsank. Ein ähnliches Bild ergab sich am dritten Tag mit 1,14 Mill. Spermien beim ersten Ejakulat und 0,97 beim zweiten. Am vierten Tag sank dann die Zahl der Spermien auf 0,72 und am fünften Tag schließlich noch weiter auf 0,48 Mill. herab. Diesem Bullen wurde nun eine Ruhepause von 5 Tagen gegönnt. Am 6. Tag wurde er dann wieder zum Sprung gelassen und lieferte dabei ein Ejakulat, welches ich als das in jeder Beziehung beste während der ganzen Untersuchungen ansprechen möchte. Es ist dies der Fall 85 der Tabelle auf Seite I u. II, welche auch alle genaueren Angaben enthält.

Es hat sich hiermit also gezeigt, daß bei zu häufig aufeinanderfolgenden Ejakulationen die Samenmenge wohl zunehmen kann, während jedoch die Zahl der Spermatozoen in der Kubikeinheit, also die Spermienkonzentration, mit jeder weiteren Ejakulation kontinuierlich absinkt.

3f) Vorkommen von *Trichomonas vaginalis* in Sperma und Präputialsekret.

In dem nun folgenden Kapitel soll eine Frage besprochen werden, die durch die Untersuchungen von Feiling (12) aufge-
rollt wurde und wegen ihrer klinischen und auch züchterischen Bedeutung einige Aufmerksamkeit verdient. Es handelt sich um die Feststellung: Kommen die beim weiblichen Rind so häufig vorkommenden Trichomonaden primär im Sperma des Bullen vor? Es ist dies eine Frage, welche für das gesamte Gebiet der Sterilität des Rindes von entscheidendem Einfluß sein kann und daher von verschiedenen Gesichtspunkten aus betrachtet werden muß.

Wir wissen, daß Trichomonaden sowohl bei der Kuh als auch beim Bullen gar nicht so selten vorkommen und eine gegenseitige Infektion beim Deckakt und eine Weiterverbreitung nur durch eine intensive klinische Behandlung der erkrankten Tiere bei gleichzeitiger Decksperre oder eventuell durchgeführter künstlicher Besamung umgangen werden kann. Was hat aber nun die ganze künstliche Besamung für einen Wert, wenn sich auf einmal herausstellt, daß die Trichomonaden schon primär mit dem Sperma ausgeschieden werden? Feiling (12) hat die Infektionserreger in mehreren Fällen einwandfrei in dem mit der künstlichen Vagina gewonnenen Sperma nachgewiesen und sagt an der entsprechenden Stelle: „Was das Vorkommen von *Trichomonas genitalis bovis* im Samen des Stieres betrifft, so mußte ich feststellen, daß ein sicherer und einwandfreier Nachweis der Protozoen bei lebendigen Spermien sehr schwer ist, da Eigenbewegung, im Falle, daß Trichomonaden im Samen vorhanden sind, durch die rhythmische, oft sehr lebhafteste Bewegung der Spermenschwänze nicht oder nur außerordentlich schwer festzustellen ist. Die Feststellung der aktiven Bewegung der Trichomonaden ist aber zu ihrem Nachweis unbedingt erforderlich, da diese Protozoen, wenn sie unbeweglich geworden sind, von anderen Zellen, insbesondere von Leukozyten sehr schwer unterschieden werden können. Um den sicheren Nachweis zu erbringen, daß *Trichomonas genitalis bovis* im ejakulierten Sperma des Bullen vorkommt, mußte ich zu einem Medium greifen, das die Samenfäden abtötet, die aktive Bewegung der Trichomonaden aber nicht vollkommen aufhebt. Dies fand ich in der Hayemschen Lösung. Durch die Einwirkung des Sublimates werden die Spermien in dieser Lösung sofort unbeweglich, dagegen wird die Eigenbewegung der Trichomonaden nicht aufgehoben und diese sind dann leicht nachzuweisen.“

Schon bei Beginn meiner Untersuchungen glaubte ich ebenfalls, in einer Reihe von Fällen Trichomonaden erkannt zu haben, mußte aber meine Ansicht zunächst korrigieren, weil ich auf Grund zahlreicher Vergleiche zu dem Ergebnis kam, daß es sich hier jedenfalls in einzelnen Fällen um einen Irrtum gehandelt haben mußte. Es war mir nämlich mit der Zeit immer mehr aufgefallen, daß ein wesentlicher Unterschied bestand zwischen den Gebilden, welche ich im Sperma als Trichomonaden ansah und jenen, welche im Pyometraeiter von Kühen mühelos als Trichomonaden diagnostiziert werden konnten. Vor allen Dingen vermißte ich in den meisten Fällen die Schwanzgeißel und das Charakteristikum der undulierenden Membran. Weiterhin fiel mir die äußerst geringe Beweglichkeit meiner vermutlichen Trichomonaden auf, so daß ich also auf Grund

aller dieser Feststellungen zu der Ansicht kam, hier einer Verwechslung anheimgefallen zu sein. Bei meinen späteren Untersuchungen konnte ich dagegen im Sperma von nachweislich trichomonadenkranken Bullen in verschiedenen Fällen die Erreger in den gewonnenen Ejakulaten einwandfrei nachweisen.

Diese Beobachtungen führten weiter dazu, daß in gewissen Zeitabständen von den verschiedenen trichomonadenverdächtigen Bullen Präputialsekret entnommen wurde, welches ich dann speziell auf Trichomonaden untersuchte, mit dem Erfolg, daß bei mehreren Bullen diese Protozoen wiederholt nachgewiesen wurden. Hier stimmten alle Erscheinungen und Lebensäußerungen mit denen der Pyometratrichomonaden vollkommen überein. In der Tabelle auf Seite I u. II sind diese Fälle unter der Rubrik „Bemerkungen“ angeführt. Zur weiteren Klärung über den Sitz der Trichomonaden wurden dann die Genitalien der drei verseuchten und frisch geschlachteten Bullen „Roland“, „Kramer“ und des Klinikbullen einer eingehenden makroskopischen und mikroskopischen Untersuchung unterzogen. Das Ergebnis war folgendes:

Makroskopisch: Bei dem Bullen Kramer war auf der Unterseite der Umschlagstelle des Präputiums auf dem Penis eine leichte Rötung festzustellen. Die Präputialschleimhaut des Klinikbullen zeigte zahlreiche, kleinlinsengroße, kreisförmige Schwellungen mit einer punktförmigen Einziehung im Zentrum; die Schwellungen zeigten einen gelblichen Farbton. Sonstige Veränderungen waren bei keinem Bullen festzustellen.

Mikroskopisch: Für den Nachweis der Trichomonaden wurden Abstriche gemacht von den Hoden, Nebenhoden, Samenbläschen, Prostata, Bulbourethraldrüsen, Harnblase, Harnröhre, Präputialsack und Penis. Von jedem dieser Organe wurden mindestens 4 Abstriche von verschiedenen Stellen gemacht und dabei folgendes festgestellt: Bei dem Klinikbullen und dem Bullen Roland konnte ich am Präputium und an der Penisspitze einwandfrei Trichomonaden nachweisen, während die Untersuchung sämtlicher anderen Abstriche vollkommen negativ verlief.

Beachtenswert ist bei diesem Ergebnis, daß der Klinikbulle vorher vielfach behandelt wurde und zeitweise keine Trichomonaden mehr nachweisen ließ, dann aber wieder von neuem gesunde Tiere infizierte und auch wieder bei der Schlachtung Trichomonaden beherbergte. Wenn auch diese Fälle bei weitem nicht für eine endgültige Urteilsbildung ausreichen, so liegt doch die Vermutung nahe, daß als Sitz der Trichomonaden in erster

Linie das Präputium in Frage kommt, von wo aus immer wieder eine neue Ausschüttung von Protozoen stattfindet. Ob außerdem noch ein anderes Organ oder eine Stelle des Genitaltraktes der Aufenthaltsort sein kann, bedarf noch einer sehr eingehenden Untersuchung. Mir würde es jedenfalls weniger einleuchten, daß die Trichomonaden beispielsweise aus den Hoden emporwandern sollen, um sich dann im Präputium anzusiedeln. Das von mir untersuchte Sperma ist zum weitaus größten Teil mit der künstlichen Vagina gewonnen worden. Feiling (12) hat in 24 Fällen das Sperma ebenfalls mit dieser Methode gewonnen, und in nicht weniger als 16 Fällen davon sind Trichomonaden im Sperma nachgewiesen, während in allen Ejakulaten, welche durch rektale Massage gewonnen waren, keine Trichomonaden gefunden wurden.

Solange daher über diese Frage keine genaueren Untersuchungen und Ergebnisse vorliegen, vertrete ich die Ansicht, daß die Geschlechtstrichomonaden beim Bullen sich lediglich in der Präputialhöhle aufhalten und in den Schleimhautfalten einen willkommenen Unterschlupf finden, von wo aus sie dann immer wieder von neuem hervorbrechen. Bei dem Begattungsakt bringt dann der hervorstoßende Penis diese Infektionserreger zusammen mit dem Präputialsekret rein mechanisch an die Oberfläche und damit in die Scheide, bzw. in das Gefäß, in welchem das Sperma aufgefangen werden soll. Wenn also tatsächlich im Sperma Trichomonaden nachgewiesen werden, so sind sie meiner Auffassung nach erst bei der Spermagewinnung, d. h. sekundär dort hineingelangt, jedoch sind sie primär im Sperma selbst, also vom Hoden oder Nebenhoden her, noch nicht vorhanden.

4. Bestimmung des pH-Wertes.

a) S c h r i f t t u m.

Die Bestimmung des pH-Wertes ist für die Qualität des Spermas in verschiedener Hinsicht nicht ohne Bedeutung. Es ist daher zweckmäßig, zunächst einmal die Meinung mehrerer Autoren über diesen Punkt kennenzulernen.

Römmele (32) hat pH-Messungen mit einer Lackmuspapiermethode vorgenommen, und zwar an Stiersperma. Er gibt allerdings selbst zu, daß er bei dieser Methode oft Fehler von 0,5 bis 2,0, also ganz beträchtliche Unterschiede, erhielt. Seine Werte beliefen sich durchweg auf über 7, während nur einer mit 6,6 angegeben wird. Römmele stellte dann weiter fest, daß die Spermatozoen bei hohem pH-Wert nur sehr kurze Zeit lebten, desgleichen bei urinösem Sperma (was wohl gleichbedeutend sein

dürfte, Verf.). Eine saure Reaktion des Scheidenschleimes hält er bei Pflanzenfressern für äußerst selten und pathologisch. „Normale Brunstscheidenschleime wirken auf die Bewegungsintensität der Spermatozoen anregend, doch hielt die Bewegung nicht sehr lange an.“ Mettenleiter und Döderlein (zitiert nach Römmele, 32) halten eine schwach saure Lösung für besser verträglich für die Spermatozoen, Hirowaka (15) und Redenz (27) dagegen bevorzugen eine schwach alkalische. Römmele selbst hat seine Bestimmungen nach der Indikatormethode von Breslau und nach einer selbst zusammengestellten kolorimetrischen Lackmuspapiermethode durchgeführt, indem er Sperma und Scheidenschleim verdünnte und dann untersuchte, nachdem er vorher noch zentrifugiert hatte. Nach seiner Methode gab dann das Lackmuspapier für bestimmte Meßbereiche ganz bestimmte Farbtöne, beispielsweise einen Farbumschlag von Rot in ein bestimmtes Blau für $\text{pH} = 7,4$ bis $7,6$. „Bei der Ausführung dieser Methoden ist zu beachten, daß die Lackmuspapiere sich oft voneinander in ihrem Farbenton und ihrer Reaktionsintensität unterscheiden. Die chemischen Fabriken sind nämlich bis jetzt noch nicht in der Lage, immer dasselbe Lackmuspapier herzustellen.“ Römmele glaubt, daß die Spermien am besten bei $\text{pH} = 7,4$ bis $7,8$ haltbar seien und stellte den höchsten Wert für gutes Sperma mit $8,4$ fest. Mettenleiters (zitiert nach Römmele, 32) bestwirkende Verdünnungslösung hatte dagegen den Wert $\text{pH} = 5,6$.

Dätwyler (9) betont, daß nach Waldeyer eine leichte Alkaleszenz des Mediums der Bewegung der Spermatozoen günstig sei, daß diese jedoch auch bei geringen Säuregraden lange anhalte. Er verwandte zu seinen Bestimmungen eine Indikatorenmethode mit Reagenspapier und stellte beim Rind folgende Sekretreaktionen fest:

Nebenhoden	sauer
Ampulle des Samenleiters	sauer (Spermatozoen beweglich)
Prostata	alkalisch
Samenbläschen	sauer
Cowpersche Drüsen	neutral (Zschocke)
Ejakulat	alkalisch

Weibliche Geschlechtsorgane sämtlich alkalisch (Nebenhodensamenzellen waren hier unbeweglich.)

Redenz (27) stellte Messungen im Rete testis und im Nebenhodenschweif mit einer Mikrowasserstoffelektrode und einer Mikrochinhydronelektrode an bei Temperaturen von 20 — 23 Grad und hat dabei herausgefunden, „daß das pH im unverdünnten Sekret des Nebenhodenschweifes in unmittelbarer Umgebung des Neutralpunktes liegt.“ Er erhielt im Rete Werte von $7,10$ bis

7,82 und im Nebenhodenschweif solche von 6,30 bis 7,50, wobei mit zunehmender Menge der Verdünnungsflüssigkeit und in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration die Bewegungsdauer abnahm.

Cary (8) sagt: "... the sperms cells were adversely influenced by increased acidity of the vaginal secretions or by alterations in the cervical secretions. But normally these secretions are bactericidal and act as a chemical stimulant attracting sperm cell to cervix." Er hat also damit festgestellt, daß eine zunehmende Säuerung oder Aenderung der Scheidensekrete, welche normal eine chemotaktische Wirkung entfalten, die Lebensfähigkeit der Spermatozoen ungünstig beeinflußt.

Nach Reynolds (29) sind die Scheidensekrete „normally acid, bacteria laden, and varyingly hostile to the spermatozoa even when admixed with the alkaline semen.“

Lespinasse (19) vertritt den Standpunkt, daß die Scheidensekrete sauer und die Cervixsekrete alkalisch sind und daß man einer übermäßigen Säuerung der Scheidensekrete am besten durch eine alkalische Spülung oder eine direkte uterine Insemination begegnen kann.

Quinby (zitiert nach Lespinasse, 19) glaubt, daß man durch Aenderung der Reaktion oder Viskosität des umgebenden Mediums die Lebensfähigkeit und Aktivität der Spermatozoen wesentlich verlängern kann. Lespinasse (19) ist dagegen der Ansicht, daß die Spermatozoen nicht durch eine Aenderung der Reaktion der Scheidensekrete vor Schädigungen geschützt werden, sondern durch eine physiologische Klumpenbildung des Samens vor der Cervix, von wo aus dann die Spermatozoen in den Uterus gelangen.

Donham (10) hat ebenfalls kolorimetrische und elektrometrische Untersuchungen angestellt, jedoch ohne besondere Ergebnisse, da, wie er selbst sagt, die Untersuchungsmethoden ungenügend gewesen sein sollen. „Attempts at determining the hydrogenion concentration by both the colorimetric and electrometric methods were unsatisfactory when used on mixtures of vaginal discharges and semen.“

Nach Hirowaka (15) beruht die anregende Wirkung auf die Spermatozoen entsprechend den Angaben von Finger auf einer saueren Reaktion des normalen Sekretes, nach Kasper (zitiert nach Hirowaka, 15) dagegen auf einer alkalischen, da die Spermatozoen durch saueren Harn beispielsweise geschädigt würden. Nach Fürbringer (zitiert nach Hirowaka, 15) reagiert frisches Prostatasekret amphoter oder schwach sauer; Pöhl (zitiert nach Hirowaka, 15) hält dies jedoch für eine postmortale Erscheinung. Lohnstein (zitiert nach Hirowaka, 15) leugnet einen merkbaren

Einfluß der Reaktion des Prostatasekretes auf die Lebensfähigkeit der Spermatozoen. Pezzoli (zitiert nach Hirowaka, 15) dagegen will bei seiner Lackmustitration einen gewissen Parallelismus zwischen dem Alkaleszenzgrad und der Vitalität der Samenfäden bemerkt haben. Hirowaka (15) selbst stellte nun fest, daß kleine Alkalimengen eine günstige Wirkung auf die Vitalität der Spermatozoen hatten. Eine Alkaleszenz entsprechend 0,002 bis 0,004% NaOH erwies sich als optimal, während 0,008% NaOH das Optimum schon überschritten hatte und bei 0,04% die Lebensäußerungen sistierten. Menschliches Prostatasekret reagierte alkalisch. Hirowaka (15) ermittelte die Alkaleszenz mehrerer Spermaportionen auf titrimetrischem Wege mit Hilfe von Lackmustinktur und sagt am Schluß seiner Untersuchungen: „... und muß hervorgehoben werden, daß die Ergebnisse der Titration in einer so eiweißreichen Flüssigkeit, wie es das Sperma ist, höchst unsicher und wenig verläßlich sind.“

V. Lanz (18) vertritt den Standpunkt, daß man auf Grund der Untersuchungen mit der Indikatorenmethode nach Michaelis feststellen kann, daß geringste Veränderungen der H-Ionenkonzentration sehr stark auf die Spermien wirken. „Alle alkalischen Lösungen wirken belebend auf die Spermatozoen, und zwar ist $\text{pH} = 8,5$ die optimale Konzentration für die Bewegung; Spuren von Säuren töten die Spermatozoen und heben daher die Bewegung endgültig auf.“ Er betont ferner, daß die Nebenhodenspermien von einer schützenden Sekrethülle umgeben sind, welche Pufferungseigenschaften hat.

Winstoßer (39) schreibt: „Die nun folgende Zusammenstellung bezieht sich auf Messungen an verschiedenen gepufferten Spermaaufschwemmungen. Es wurden hierzu Phosphatlösungen von 6,1–8,0 pH verwendet. Im Gegensatz zu allen bisherigen Versuchen waren die Samenfäden dabei auch in einer Umgebung von über und unter 6,52 pH beweglich. — Bis ans Ende der dritten Stunde wurde nur bei drei Versuchen, mit 6,7, 7,0 und 7,5 pH, mäßige Beweglichkeit beobachtet. — Den stärksten Sauerstoffverbrauch zeigen die Samenfäden in den Pufferlösungen 7,0 und 7,38 pH, den nächst höheren die der Gruppe 6,10 pH. Fast den gleichen Wert erreichen die Spermien in der Verdünnung von 8,0 pH. Dann folgen in kurzen Abständen die Ergebnisse der Gruppen 6,46 bis 6,58 und 7,5 pH, während wir die geringste Atmung bei den Versuchen mit 6,7 und 6,8 pH finden. — Bei meinen Versuchen erwiesen sich die Samenfäden auch in Phosphatpuffern unter 6,7 pH beweglich, zum Teil bis zu 2 Stunden lang und darüber. Es ist daher die Annahme, daß die Samenfäden lediglich durch die Zunahme der H-Ionenkonzentration im Samenspeicher ruhiggestellt werden, anzuzweifeln. —

Die Untersuchungen durch v. Lanz über die reelle Acidität im Nebenhodenschweif unter verschiedenen Zuständen, mit gefüllten und nicht gefüllten Lichtungen haben aber stets die gleiche, verhältnismäßig hohe Konzentration der H-Ionen von 6,58 bis 6,63 pH ergeben.“

Becher (4) hat sehr interessante Untersuchungen über die Wirkung der inkretorischen Stoffe angestellt und sagt darüber: „Wir selbst haben am Stierhoden und -Nebenhoden pH-Bestimmungen im Gewebe gemacht und im frischen Nebenhodenschwanz sowie in dem ausgequetschten, unverdünnten Sperma eine pH von 6,7 festgestellt, die wir dann als grundlegend für unsere Versuche eingehalten haben. Gegenüber einer gewissen Verschiebung der pH sind lebensfrische Spermien nicht überempfindlich.“ Er beobachtete bei einer pH von 6,7 und 7,5 die gleiche Bewegungsintensität und stellte eine zunehmende postmortale Säuerung fest. Alle Versuchslösungen wurden auf eine pH von 6,7 bis 6,9 eingestellt und die pH-Bestimmung durchgeführt mit dem Folienkolorimeter von Lautenschläger mit den Indikatorfolien nach Wulff. Die Feststellungen ergaben folgendes:

physiol. NaCl	pH = 6,5
Ringerlösung	pH = 6,7
Follikelflüssigkeit (Kuh) . .	pH = 8,5

Als bewegungsfördernd stellte sich Follikelflüssigkeit und Thyroxin, letzteres in stärkerer Verdünnung günstiger, heraus; bewegungshemmend wirkt Insulin, Adrenalin, Hypophysin und Progynon.

Götze (13) sagt, daß der Zustand der natürlichen Anabiose, der durch das Anion der Laktate (beim Stoffwechsel der Spermatozoen entstehen CO_2 und Milchsäure) herbeigeführt wird, am vollkommensten sei bei $\text{pH} = 6,0$ und mit sinkendem pH in Abiose übergehe, und zwar beim Schaf mit $\text{pH} = 4,5$ und beim Rind mit 5,0. Das heißt also, daß bei diesen Werten die Spermatozoen absterben und sich nicht wieder zum Leben erwecken lassen. In anderen Fällen gelingt die Wiederbelebung der Spermien unter langsamer Erwärmung bis zu 40° und bei Zusatz des Glukose-Phosphatverdünners von $\text{pH} = 7,6$.

4b) Technik der pH-Bestimmung.

Die pH-Bestimmung des Spermas führte ich nach der elektrometrischen Methode von Roeder, deren auch Feiling (12) sich bedient hat, durch und konnte dabei eine Reihe interessanter Feststellungen machen. Die Durchführung selbst geht in der folgenden Weise vor sich: Die Quecksilbersäule des Elektro-

meters wird mit Hilfe des Mikroskopes und der am Fuße des Elektrometers befindlichen Stellschrauben genau auf den durch das Mikroskop sichtbaren Faden eingestellt. Alsdann wird der Stromkreis zwischen dem Elektrometer und den Elektrodengefäßen durch entsprechende Anbringung der Verbindungskabel hergestellt, wobei darauf zu achten ist, daß die beiden Gefäße den federnden Elektrodenstiften gut aufsitzen. Die beiden Elektrodengefäße sind verschieden groß und werden durch einen Metallbügel in der vertikalen Lage gehalten. In das kleinere rechte wird das zu untersuchende Sperma eingefüllt, während das größere linke für die Vergleichslösung bestimmt und mit einem Glasrührer versehen ist. Beide werden durch einen Kaliumchlorid-Agar-Heber derart verbunden, daß der längere Schenkel des Hebers in das Sperma und der kürzere in die Vergleichslösung eingetaucht wird. Nun kommt in beide Gefäße eine geringe Menge Chinhydron, in das kleinere das Sperma und in das größere die Vergleichslösung. Als solche benutzte ich stets primäres Kaliumphosphat, dessen Stammlösung im Verhältnis 10 : 15 verdünnt wird. Nachdem von dieser Vergleichslösung, also der verdünnten Stammlösung, 20 ccm in das entsprechende Gefäß gebracht wurden, wird der Stromkreis geschlossen, indem man durch den Stecker die Verbindung mit dem Stromnetz herstellt. Beim Niederdrücken des Tasters wird man nun durch das Mikroskop einen Ausschlag der Quecksilbersäule feststellen können, welcher je nach der Beschaffenheit des Spermas kleiner oder größer sein wird. Nun wird so lange titriert, indem man aus einer bereitstehenden Bürette tropfenweise 0,5 n Natronlauge zu der Vergleichslösung zugibt und mit Hilfe des Glasstabes gut umrührt, bis kein Ausschlag der Quecksilbersäule mehr festzustellen ist. Bei richtiger Durchführung wird dann an der entsprechenden Bürette der Verbrauch an Natronlauge abgelesen und die erhaltene Zahl zu einer bestimmten Konstanten, welche für jede Lösung festliegt und im vorliegenden Fall 5,01 beträgt, hinzugezählt. Die so erhaltene Zahl gibt dann den pH-Wert des untersuchten Spermas an.

Auf diese Weise läßt sich der pH-Wert sehr genau bestimmen, da ja durch die tropfenweise Zugabe der Natronlauge ein möglichst exaktes Arbeiten gewährleistet wird. Ein Ueberschuß von Natronlauge über den Spannungsausgleich hinaus hat selbstverständlich einen Ausschlag im negativen Sinne zur Folge, wird jedoch erst von einer bestimmten Ueberschußmenge an deutlich. Dies zeigt sich etwa folgendermaßen :

7 Tropfen Ueberschuß: minimaler negativer Ausschlag.					
15	„	„	geringer	„	„
30	„	„	größerer	„	„
50	„	„	deutlicher	„	„
70	„	„	starker	„	„

Es leuchtet außerdem ein, daß jede Beeinflussung des Spermas, beispielsweise eine Verdünnung, wie sie bekanntlich von verschiedenen Autoren angewandt wurde, den wahren Charakter desselben irgendwie verändern kann. Ich stehe deshalb auf dem Standpunkt, daß man schon bei der Gewinnung und erst recht bei der pH-Bestimmung des Spermas alles vermeiden soll, was eine für derartige Untersuchungen unerwünschte Einwirkung entfalten könnte. Es darf demnach auch nicht verwundern, daß einzelne Autoren am Ende ihrer Arbeiten selbst die Fehlerhaftigkeit ihrer Untersuchungen zugeben müssen.

4c) Bedeutung des pH-Wertes für die Qualität des Spermas.

Zwischen dem pH-Wert und der Qualität des Spermas bestehen so innige Beziehungen, daß man bei einiger Übung allein schon auf Grund der makroskopischen Untersuchung in den meisten Fällen einen Rückschluß auf die eventuelle Höhe des pH-Wertes ziehen kann. Diese Zusammenhänge beruhen darauf, daß jeder Zusatz von Harn dem Sperma einen ganz bestimmten Farbton verleiht, welcher mit zunehmender Harnmenge immer mehr ins Grau-Braun hinüberspielt und daher den Grad der Verdünnung deutlich erkennen läßt. Analog wird selbstverständlich der pH-Wert durch den Harnzusatz nach der alkalischen Seite zu verlagert, da ja bekanntlich der normale Rinderharn alkalisch reagiert. Daneben gibt es allerdings auch Fälle, wo das Sperma gewissermaßen eine Zwischenstellung einnimmt. Hier kann sich die Konsistenz gewiß in einer dünnen bis wässerigen Beschaffenheit des Spermas äußern, jedoch ist dabei zu entscheiden, ob hier wirklich eine Verdünnung durch Harn vorliegt oder ob nicht vielleicht eine geringere Spermienkonzentration und eine dadurch bedingte Herabsetzung der Konsistenz die Ursache ist. Einige derartige Fälle sind in der Tabelle auf Seite I u. II unter den Nummern 5, 9, 13, 20 und 21 beispielsweise angegeben. In anderen Fällen ist dagegen der verhältnismäßig hohe pH-Wert eindeutig auf eine starke Harnbeimengung zurückzuführen, was sich in den Fällen 6, 15, 35, 37, 73 und 96 am besten zeigt. Ganz offensichtlich tritt das, was ich sagen will, in den Fällen 4—5, 15—17, 25—27, 28—29 und 73—74 zutage, wo es sich um Sperma handelt, welches kurz hintereinander von denselben Bullen gewonnen wurde:

Fall:	Ejakulat:	Farbe:	Konsistenz:	pH:
4-5	1.	gelblich	dünn	6,13
	2.	"	rahmig	5,57
15-17	1.	trüb	wässerig	7,49
	2.	gelblich	mildig	6,37
	3.	"	rahmig	6,25
25-27	1.	weiß	mildig	7,15
	2.	"	"	6,47
	3.	"	sahnig	6,03
28-29	1.	weißlich	dünn	6,09
	2.	bräunlich	"	6,61
73-74	1.	gelblich	mildig	6,45
	2.	bräunlich	dünn	6,72

Aus dieser kurzen Zusammenstellung geht klar hervor, daß mit der Qualität des Spermas der zugehörige pH-Wert steigt und fällt. Es besteht also hier das Verhältnis der umgekehrten Proportionalität, d. h. während in den ersten drei Versuchen mit jedem weiteren Ejakulat eine Verbesserung der Spermaqualität, zugleich aber ein Absinken des entsprechenden pH-Wertes eintrat, zeigte sich in den beiden letzteren Versuchen gerade das Gegenteil, also eine Abnahme der Spermaqualität bei gleichzeitigem Ansteigen des pH-Wertes. Wenn man nun weiter außer der Farbe und Konsistenz des Spermas auch die Konzentration und die Bewegungsintensität der Spermatozoen mitberücksichtigt, dann ergibt sich von selbst, daß der pH-Wert als ein untrüglicher Gradmesser für die Qualität des Spermas gelten muß.

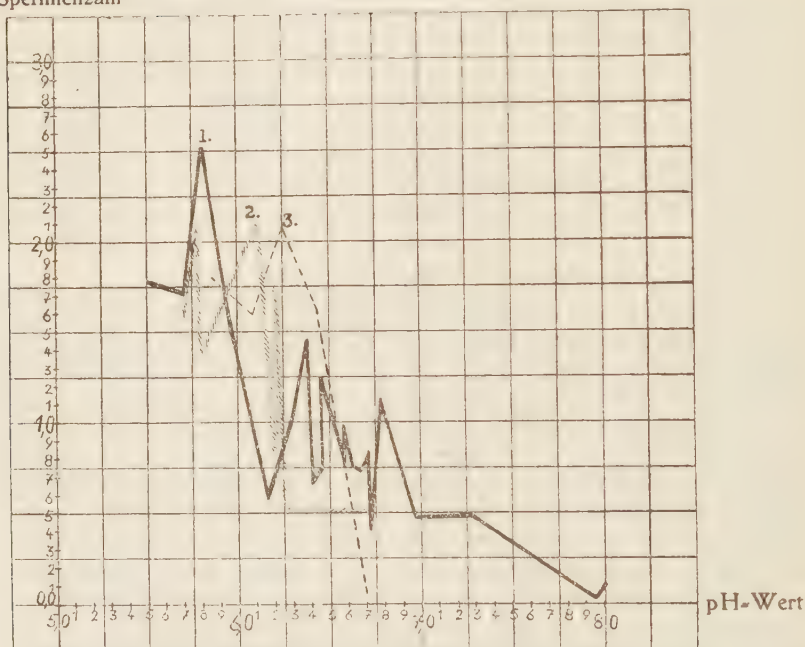
Da sich bei meinen Untersuchungen wiederum herausgestellt hat, daß der pH-Wert des Spermas Schwankungen innerhalb gewisser Grenzen — die Werte schwanken zwischen 5,41 und 7,49 pH — unterworfen ist, tauchte die Frage auf, in welchem Verhältnis eigentlich die Spermienkonzentration bzw. -zahl und der pH-Wert zueinander stehen. Es lag die Vermutung nahe, daß ein mehr oder weniger stark mit Harn vermischtes Sperma mit einem infolgedessen hohen pH-Wert auf die Anzahl der Spermien nicht ohne Einfluß bleiben könne. Ich brachte also die Spermienzahl der in dieser Hinsicht untersuchten Ejakulate mit dem entsprechenden pH-Wert in eine graphische Beziehung und kam dabei zu dem Ergebnis, welches durch die Kurven auf Seite 52 veranschaulicht wird. Diese Kurven beziehen sich auf die Untersuchungen der Bullen „Josef“, „Roland“ und „Kinzenbach“. Entsprechend läßt sich natürlich für alle Bullen eine gemeinsame Kurve aufstellen.

Verhältnis des pH-Wertes zur Spermienzahl

des Spermas des

1. Bullen „Josef“ (schwarz)
2. und „Roland“ (schraffiert)
3. und „Kinzenbach“ (punktiert)

Spermienzahl



welche ebenso wie eine spezielle für den einzelnen Bullen eine stark abfallende Tendenz der Spermienzahl bei ansteigendem pH-Wert zu erkennen gibt. So zeigt Kurve 1. bei einer maximalen Spermienzahl von 2,53 Millionen pro cmm den geringen Wert von 5,81 pH, bei einer minimalen Spermienzahl von 0,03 Millionen dagegen den sehr hohen Wert von 7,96 pH. Zwischen diesen beiden Extremen verteilen sich die übrigen Werte je nach der Spermaqualität derart, daß eine in sich reichgegliederte Kurve mit einer stark abfallenden Grundtendenz entsteht, welche in der Konsistenz des Spermas und der damit verbundenen Spermienkonzentration ihre Ursache hat. Außerdem fällt auf, daß die Zahl der Spermien pro cmm etwa $\text{pH} = 6,7$ ab unter einer Million und von $\text{pH} = 7,0$, also dem Neutralpunkt ab, durchweg sogar unter einer halben Million

liegt, was zweifellos für das normalerweise hochkonzentrierte Bullensperma eine wesentliche qualitative Wertminderung bedeutet. Meine Untersuchungen in dieser Beziehung bestätigen die von Feiling (12) hinsichtlich der rektalen Massage gemachten Angaben. Feiling zählte die Spermien der auf diese Weise gewonnenen Ejakulate aus und erhielt dabei Zahlen, welche zwischen 60 000 und 200 000 schwankten, wobei die Spermien außerdem eine verhältnismäßig hohe Sedimentierungsgeschwindigkeit zeigten und zum größten Teil ihre Lebensfähigkeit bereits eingestellt hatten. Die Spermienkonzentration war in allen diesen Fällen sehr stark herabgesetzt, während sich der pH-Wert durchweg auf 7,0 und weit darüber belief.

Es ergibt sich also aus diesen Tatsachen, daß der pH-Wert bei der Beurteilung von Bullensperma eine wesentlich größere Bedeutung hat, als es vielleicht bisher angenommen wurde. Ich vertrete jedenfalls auf Grund meiner Untersuchungen den Standpunkt, daß der pH-Wert normalen Bullenspermas unter dem Neutralpunkt, also im sauren Gebiet liegt, während jede Alkaleszenz ein Zeichen für eine stärkere Beimischung von Harn ist. Da sich außerdem gezeigt hat, daß bei alkalischem Sperma die Spermienkonzentration stark herabgesetzt und die Lebensenergie der vorhandenen Spermien bereits wesentlich vermindert ist, worüber auch eine vorübergehende sehr lebhafte Beweglichkeit der Spermatozoen zur Zeit der Untersuchung nicht hinwegtäuschen kann, so ist die Verwendung eines solchen Ejakulates zur künstlichen Besamung reiflichst zu überlegen, wenn nicht der Erfolg der Besamung in Frage gestellt oder gar von vornherein schon aussichtslos sein soll. Ich halte daher für Bullensperma, das zur künstlichen Besamung verwandt werden soll, einen pH-Wert von 6,4—6,6 für wünschenswert und stehe auf Grund der ausgeführten Zusammenhänge weiterhin auf dem Standpunkt, daß eine Spermagewinnung durch rektale Massage für die künstliche Besamung eine wenig geeignete Methode ist.

5. Untersuchung auf Haltbarkeit der Spermien.

a) Schrifttum.

Römmele (32) hat hinsichtlich der Haltbarkeit der Spermien zahlreiche Untersuchungen angestellt und sagt, daß die Bewegungsintensität und -dauer mit der Zahl der noch beweglichen Spermien gewöhnlich in einem proportionalen Verhältnis steht. Weiter hat er festgestellt, daß auf Depressionszustände, also Sauerstoffmangel, eine erhöhte Tätigkeit erfolgt. „Wird jedoch die Schädigung weitergetrieben, so wird sie irreparabel.“ Bei Kälte sistiert die Bewegung, der Stoffwechsel wird stark herab-

gesetzt, die kinetische Energie aufgespart. Die unterste Grenze für Beweglichkeit ist $4-6^{\circ}\text{C}$, die obere 47°C (Hirowaka).

Van Oordt (23) sagt: „Die Tatsache, daß bei heißem Wetter die Hoden tief hängen, bei kaltem Wetter jedoch dem Körper anliegen, weist darauf hin, daß der Hodensack eine thermoregulierende Funktion erfüllt, wodurch die Spermiogenese bei einer tieferen Temperatur als der des Abdomens sich abspielt. – Moore und seine Mitarbeiter haben gezeigt, daß eine Temperatur, welche nur wenige Grade Celsius höher ist als die des Hodensackes und auch nur kurze Zeit (einige Minuten) einwirkt, einen stark degenerierenden Einfluß auf die Spermiogenese ausübt. Unsere Experimente haben deutlich gezeigt, daß relativ niedrige Temperaturen keinen Einfluß haben auf die Spermiogenese bei Säugern, deren Hoden normaliter einen Descensus aufweisen.“

Nach Stiegler (33) werden menschliche Spermatozoen bei 48°C sofort wärmestarr, auch bei Fieber nach mehreren Stunden. Beim zweiten Ejakulat trat die Starre früher ein. Bei sehr rascher Erwärmung trat die Wärmestarre im Hoden bei 55 bis 57°C , im Nebenhoden bei $61-62^{\circ}\text{C}$ ein, bei langsamer Erwärmung dagegen im Hoden bei $51,5^{\circ}\text{C}$ nach $2\frac{1}{2}$ Minuten, im Nebenhoden bei $56,4^{\circ}\text{C}$ nach 3 Minuten. Je langsamer also die Erwärmung erfolgte, bei umso niedrigerer Temperatur trat die Wärmestarre ein. So trat nach einer Stunde die Starre bereits bei 40°C ein. „Die Spermatozoen des Nebenhodens sind auch dann noch gegen Hitze beträchtlich widerstandsfähiger als die Spermatozoen des Hodens, wenn sie durch Zentrifugieren in Sperma verdünnungsflüssigkeit soviel als möglich vom Nebenhodensaft befreit worden sind.“

Dätwyler (9) steht ebenfalls auf dem Standpunkt, daß sich die Beweglichkeit der Spermatozoen bei niedriger Temperatur länger erhält als bei hoher. Er beobachtete bei seinen Versuchen, daß die Spermatozoen bei 37°C 29 Stunden lang beweglich waren, bei 40°C 5 Stunden, bei 50°C 9 Minuten, während bei 56°C die Lebensäußerungen momentan sistierten. Dätwyler glaubt weiterhin, daß die Zufuhr oder der Abschluß von Sauerstoff für die Spermatozoen gleichgültig sei.

Cary (8) zitiert: „Gross says that their motion should continue or be capable of being reestablished for twelve hours“, während er selbst diese Zeit für viel geringer hält.

Lespinasse (19) setzt die Zeitspanne der Bewegungsdauer schon geringer an und sagt: „In from five to ten hours in normal cases, depending on external conditions, all movement ceases.“

Nach Hirowaka (15) setzt eine starke Verdünnung mit physiol. NaCl-Lösung die Lebensdauer der Spermatozoen erheblich herab. Im Prostatasekret dauerte die Bewegung 10, 12

und 14 Stunden, ohne dieses nur 2½, 3 und 3½ Stunden. Menschliches Prostatasekret förderte auch die Bewegung von Samenfäden der Ratte, ist also keineswegs artspezifisch; der wirksame Bestandteil ist dabei thermostabil.

V. Lanz (18) sagt, daß sich die Spermatozoen „ihre bewundernswerte Ausdauer und Widerstandsfähigkeit auf ihrer Wanderung durch den Nebenhoden erwerben.“

Toivola (35) hält die Körpertemperatur für die Spermatozoen für optimal, während sie auch in physiol. NaCl-Lösung mehrere Stunden ihre Beweglichkeit zeigen sollen. Die aktive Beweglichkeit wird von Valentin, Margo, Lewin und Hoffmann (zitiert nach Toivola, 35) sogar bis zu 83 Stunden nach dem Tode des Individuums angegeben. Nach Möller und Thoms (zitiert nach Toivola, 35) hört die Lebensfähigkeit der Spermatozoen bald auf in saurerer Flüssigkeit, Wasser oder durch Eintrocknen, ebenso bei zu niedriger oder zu hoher Temperatur.

Windstoßer (39) hat über die Atmungsverhältnisse bei den Spermatozoen eingehende Untersuchungen durchgeführt und berichtet darüber folgendermaßen: „Der Sauerstoffverbrauch steigt also während der ersten Stunde am stärksten an und erreicht gegen Ende der zweiten Stunde seinen höchsten Punkt. In der dritten Stunde war bei keinem dieser Versuche mehr eine wesentliche Atmung zu beobachten, und auch über diese Zeit hinaus fortgesetzte Ablesungen ließen sich bei keiner Versuchsanordnung mehr positiv verwerten. Der Sauerstoffverbrauch von 10 Millionen unverdünnter Samenfäden erreicht somit seinen höchsten Punkt gegen Ende der zweiten Stunde mit 1,668 cmm.

Bei mit physiol. NaCl-Lösung verdünnten Spermatozoen war der Sauerstoffverbrauch in der ersten Stunde 3,2 cmm, in der zweiten weitere 1,2 cmm und in der dritten weitere 0,9 cmm. Höchster Anstieg gegen Ende der dritten Stunde mit 5,283 cmm für 10 Millionen Samenfäden.“

Nach Becher (4) vertragen Stierspermien eine Unterkühlung leichter als eine Ueberhitzung, während die optimale Temperatur bei 34—35° C liegen soll. V. Lanz (zitiert nach Becher, 4) behauptet außerdem, daß der Sauerstoffverbrauch gespeicherter Samenfäden in einer Stunde das Vielfache ihres Eigenvolumens ausmacht, während der Gassstoffwechsel sich unmittelbar proportional der Bewegungsintensität der Spermatozoen verhält.

Lagerlöf (17) machte ähnliche Beobachtungen wie van Oordt (23) und teilt hierüber mit: „Eine 4 Tage lange Störung in der wärmereregulierenden Funktion des Skrotums bewirkte eine Störung in der Spermiogenese, die sich dadurch kennzeichnete, daß das Bewegungsvermögen der Spermien stark beeinträchtigt oder ganz aufgehoben wurde und die Köpfe der Sper-

mien eine ausgeprägte Veränderung erfuhren (bis zu 70 % pathologische Köpfe).“

Nach Götze (13) beläuft sich die Lebensdauer von Bullensperma, welches nicht mit dem Schwamm gewonnen worden ist, auf 106 Stunden und wird durch die Schwammpassage etwa um die Hälfte, also auf 58 Stunden verkürzt. Er gibt ferner das Optimum für die Erhaltung des Spermas mit 10—25° C. für längere Zeit mit 7—13° C an. „Schädlich ist auch direktes Sonnenlicht. Alle organischen und anorganischen Säuren, Basen und Salze, insbesondere die Schwermetallsalze, ferner Desinfektionsmittel, Glyzerin und sogar das Leitungswasser sind starke Gifte, ebenso wirken natürlich bakterielle Verunreinigungen, wie Beimischungen von Eiter oder Blut, zerstörend.“ Konservierungsversuche sind jedoch nicht geglückt. Immerhin soll Sperma nicht über 30 Minuten alt sein, während für Bullensperma eine Spanne von 6 Stunden zugelassen werden kann. „Das Anion der Laktate ist aber in der Lage, die Spermien in den Zustand der Anabiose zu versetzen, d. h. sie leben noch, sind aber unbeweglich und können durch entsprechende chemische Zusätze wieder aktiv gemacht werden.“ — „So kann man z. B. verdünntes Schafsperma durch ein wenig Laktatzusatz schnell künstlich anabiotisch machen, 98 Stunden aufbewahren und nach dieser Zeit 60% der Spermatozoen wieder beleben.“

Zitiert nach Iwanoff (16) behauptet Hoffmann, „daß die Samenfäden ihre Beweglichkeit und ihre Lebenskraft im Laufe von 24 Stunden erhalten werden, wenn man sie bei Körpertemperatur aufbewahrt.“ Iwanoff stimmt dieser Meinung jedoch nicht zu. Er sagt: „Ich beobachtete bewegungsfähige Samenfäden in bei 2° C aufbewahrten Hoden eines Stieres achtmal 24 Stunden, in den Hoden eines Hengstes siebenmal 24 Stunden und in den Hoden eines Hundes siebenmal 24 Stunden nach der Kastration. Die Lebenskraft und Ausdauer der Samenfäden ist bei genannten Verhältnissen geradezu bewundernswert. So fand ich z. B. schwach bewegliche Samenfäden in der Epididymis eines Stieres zwölfmal 24 Stunden nach der Kastration.“ Iwanoff hält eine Versendung von Sperma auf eine kurze Entfernung für möglich und sagt in diesem Zusammenhang: „Beim Stier, Widder und Hund erhält sich die Lebenskraft der Samenfäden außerhalb des Körpers länger, und ich habe hierbei wiederholt Gelegenheit gehabt, eine vorwärtstrebende Bewegung nach 20, 48 und sogar 66 Stunden (Hund) zu beobachten.“

Eine Frage, die mit der künstlichen Besamung in engem Zusammenhang steht, ist die der Haltbarkeit der Spermien außerhalb des Körpers. Diese Frage interessiert umso mehr, als man bemüht ist, geeignete Wege zu finden, welche eine weitver-

breitete und gehaltvolle Nachzucht besonders wertvoller Zucht-tiere, jedoch bei möglichster Schonung derselben, ermöglichen sollen. In diesem Sinne beschäftigte viele Autoren die Frage der Dauer der Lebensfähigkeit der Spermatozoen unter bestimmten Lebensbedingungen. So wurden die Sauerstoffverhältnisse und ihre Beziehungen zur Lebensdauer der Spermatozoen, ferner Wärme und Kälte mit ihren verschiedenen Einflüssen usw. untersucht. Alle diese Beobachtungen erstrecken sich jedoch zum großen Teil auf Spermatozoen, welche irgendwie auf operativem Wege, also durch Kastration oder Tötung des betreffenden Tieres gewonnen wurden. Ich halte dagegen die Untersuchung am normalen Sperma, wie es bei der natürlichen Begattung ejakuliert wird, für ungleich wertvoller und aufschlußreicher, schon allein deswegen, weil gerade derartige Untersuchungen nur unter Beibehaltung möglichst natürlicher Verhältnisse zu einem einwandfreien und brauchbaren Ergebnis führen können. Und alle diese Ueberlegungen stehen bei der künstlichen Besamung doch zweifellos im Vordergrund.

Bevor ich nun zu meinen eigentlichen Versuchen übergehe, möchte ich noch auf die diesbezüglichen Angaben in der Tabelle auf Seite I u. II etwas eingehen. Unter der Rubrik „Alter des Ejakulates“ ist angegeben, nach welcher Zeit das Sperma untersucht wurde. Vorausschicken möchte ich dabei, daß die Ejakulate bis zum Zeitpunkt der Untersuchung in ihrem Auffanggefäß und außerdem noch in einen verschlossenen Holzbehälter aufbewahrt wurden, während das Auffanggefäß ebenfalls mit einem Korken verschlossen war. Die Beobachtungen, die ich an einigen typischen Fällen erläutern werde, waren dabei folgende:

Im frischen Sperma zeigten sich alle die Eigentümlichkeiten, welche ich oben bereits beschrieben habe und die in erster Linie durch die Beschaffenheit des Spermas an sich bedingt sind.

In einem 1 Stunde alten Ejakulat waren Besonderheiten nicht zu bemerken. Die Spermatozoen des gut konzentrierten Spermas ließen sich durch die Verdünnung zu erneuter Bewegung anregen, soweit sie diese nicht schon erkennen ließen.

Nach 2 Stunden ließ sich in mehreren Ejakulaten ein großer Teil der bewegungslosen Spermatozoen wieder zu neuem Leben erwecken, bzw. die vorhandene Beweglichkeit noch um eine oder zwei Noten verbessern. In einem Fall nahm dagegen nach der Verdünnung die Zahl der bewegungslosen Spermatozoen noch zu, ein Zeichen also, daß hier die Lebensenergie zum großen Teil schon aufgezehrt war.

In zwei 3 Stunden alten Ejakulaten war ebenfalls eine gewisse Verschlechterung der Bewegungsintensität festzustellen. Außerdem zeigte das Sperma einen bräunlichen Farbton.

Weiter zeigte nach 5 Stunden ein Sperma von sehr guter Konsistenz und Spermienkonzentration die Beweglichkeitsstufe + + — — — 2, die sich nach Zusatz des Phosphatverdünners auf + — — — — 1 verbesserte.

Die Untersuchung von 13 Stunden altem Sperma ergab nach der Verdünnung ebenfalls ein günstiges Resultat, wobei die Spermatozoen im unverdünnten Zustand etwa eine Mittelstellung hinsichtlich ihrer Lebensenergie einnahmen. In einem Fall von vollkommener Anabiose der Spermien, d. h. also Beweglichkeitsstufe + + + + 6, konnte ich mit Hilfe der Verdünnung genau das gegenteilige Extrem erzielen, nämlich die die höchste Lebensentfaltung kennzeichnende Stufe + — — — — 1.

Zahlreiche Untersuchungen hatten sich mit Spermaproben zu befassen, welche bereits 15 Stunden alt waren. Hier konnte ich eine in vielen Fällen wesentliche Verbesserung sowohl des Prozentsatzes der beweglichen Spermien als auch der Bewegungsintensität derselben erreichen, wobei die Verbesserung wohlge-merkt in jedem der insgesamt 19 Fälle eintrat. Im unverdünnten Sperma zeigten in diesen Fällen die Spermatozoen durchweg die Beweglichkeitsnote 3 und schlechter.

Die gleichen Beobachtungen gelten für ein Ejakulat, welches 16 Stunden alt war.

Schließlich lagen noch zwei Fälle mit 50 Stunden vor, von denen der eine bereits den Zustand der Abiose zeigte, während im anderen die Wiederbelebung der Spermatozoen und die Herstellung ihrer Beweglichkeit zu etwa 50 % gelang, d. h. die vollkommen leblos erscheinenden Spermatozoen zeigten nach Zusatz der Phosphatlösung wieder die Beweglichkeitsstufe + + — — — 3.

Aus diesen Ausführungen geht hervor, daß in gutem Sperma die Spermatozoen in der Lage sind, ihre Lebensenergie für längere Zeit, in den vorliegenden Fällen bis zu 50 Stunden und darüber, aufzusparen und durch Zusatz der genannten Phosphatlösung wieder zu neuem intensivem Leben zu erwachen. Weiter hat sich gezeigt, daß in dünnem Sperma die Spermatozoen wohl sehr lebhaft sein können, daß sie aber in diesem Fall meist ihre Lebenskraft rasch vergeuden und durch Zusatz bestimmter Lösungen vollends zugrundegehen.

5b. Untersuchung unter Lichteinfluß und Lichtabschluß im offenen und geschlossenen Gefäß.

Die nun folgenden Untersuchungen hatten die Aufgabe, die Haltbarkeit der Spermatozoen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur zu ermitteln. Die zu untersuchenden Ejakulate wurden zu diesem Zweck auf mehrere gut gereinigte Reagenzgläschen gleichmäßig verteilt und dann unter Licht- und Sauerstoffzufuhr, bzw. Abschluß aufbewahrt und in regelmäßigen Zeitabständen untersucht. Ich kann hier gleich vorausschicken, daß sich wesentliche Unterschiede dabei nicht ergaben. Die Ejakulate wurden zunächst nach den oben abgehandelten Gesichtspunkten auf ihre Qualität untersucht und dann zum Versuch angesetzt. Ich kann mich daher bei der Ergebnisgleichheit der einzelnen Versuche auf die Anführung eines Beispieles beschränken. Der Einfachheit halber bezeichniete ich die einzelnen Gläser folgendermaßen:

Glas 1: Sperma unter Licht- und Sauerstoffeinfluß.

Glas 2: Sperma unter Lichteinfluß, aber Sauerstoffabschluß.

Glas 3: Sperma unter Lichtabschluß, aber Sauerstoffeinfluß.

Glas 4: Sperma unter Licht- und Sauerstoffabschluß.

Qualität des Spermas: 7 cem. bräunlich-weiß, dünn-milchig, zahlreiche pathologische Spermien, rasche Sedimentierung, $ph = 6,63$.

1. Untersuchung: In allen vier Gläsern befinden sich die Spermatozoen zu ca. 50% in lebhaft zitternder Bewegung, jedoch mit nur geringer Vorwärtsbewegung; nach Zusatz des Phosphatverdünners tritt keine Verbesserung ein.

2. Untersuchung: In Glas 1. und 2. zeigt sich noch das gleiche Bild, jedoch fallen zahlreiche Spermien mit Rückwärtsbewegung auf. In Glas 3. und 4. ist die Bewegung noch etwas lebhafter, läßt in der Verdünnung jedoch nach.

3. Untersuchung: Die Spermien befinden sich in allen Gläsern in mäßig lebhafter, zitternder Bewegung mit sehr viel Rückwärtsbewegung.

4. Untersuchung: Das gleiche Bild.

5. Untersuchung: Im 1. Glas sind die Spermien zu ca. 75% unbeweglich, die übrigen zeigen nur noch ein krampfhaftes Zucken und in der Verdünnung fast nur Rückwärtsbewegung. Im 2. Glas sieht man noch vielfach zitternde und schlängelnde Bewegung, in der Verdünnung ebenfalls noch lebhaftes Zittern. Im 3. und 4. Glas sind die Spermien zu ca. 75% unbeweglich, während der Rest eine leicht schlängelnde Bewegung aufweist, welche in der Verdünnung in ein lebhaftes Zittern übergeht.

6. Untersuchung: Hier zeigt sich wieder in allen Gläsern ein einheitliches Bild. Nur einige wenige Spermien lassen noch ein schwaches Zucken erkennen. In der Verdünnung wird das Zucken noch lebhafter und steigert sich teilweise sogar zu einer guten Vorwärtsbewegung.

7. Untersuchung: Das gleiche Bild, jedoch mit weiter herabgesetzter Lebensenergie.

8. Untersuchung: In Glas 1. und 3. zeigen die Spermien keinerlei Bewegung mehr, während sich in Glas 2. und 4. in der Verdünnung noch ganz vereinzelt ein schwaches Zucken feststellen läßt.

9. Untersuchung: Das gleiche Bild.

10. Untersuchung: In allen 4 Gläsern sistiert jede Bewegung.

Auch bei diesen Untersuchungen unterlag die Lebensdauer der einzelnen Spermatozoen den verschiedenen Schwankungen, hervorgerufen durch alle jene Faktoren, welche bereits oben als einflußreich auf die Qualität des Spermas und der Spermatozoen selbst bezeichnet wurden. Jedenfalls kann ich mich auf Grund meiner Untersuchungen der Ansicht Dätwyler's (9) anschließen, daß die Sauerstoffverhältnisse, d. h. die Zufuhr oder der Abschluß von Sauerstoff auf das gewonnenene Ejakulat keinen wesentlichen Einfluß ausüben.

Eine ungleich größere Bedeutung für die Lebensdauer und Lebensenergie der Spermatozoen haben dagegen die Temperaturverhältnisse, d. h. also die jeweilige Temperatur, bei welcher das betreffende Ejakulat aufbewahrt wird. Dies soll an dem folgenden Beispiel gezeigt werden: Für die Untersuchung wurde ein Sperma verwandt, welches auch bei der Untersuchung der Licht- und Sauerstoffverhältnisse benutzt wurde. Der Versuch wurde während der kalten Jahreszeit vorgenommen, so daß hier schon durch die Differenz der Außen- und Innentemperatur ein willkommener natürlicher Unterschied gegeben war. Während also die erwähnten 4 Gläser mit Sperma bei einer Temperatur von 18—20 °C gehalten wurden, verblieb gleichzeitig ein Teil desselben Spermas während der ganzen Dauer des Versuches unter dem Einfluß der Außentemperatur. Diese Probe wurde ebenfalls in bestimmten Zeitabständen und bei verschiedenen Temperaturgraden untersucht.

Die Qualität des Spermas war folgende: 7.5 ccm. weißlich, sahnig, Bewegungsintensität 1.

Der Licht- und Sauerstoffversuch zeigte zunächst ein allmähliches, kontinuierliches Absinken der Bewegungsfähigkeit und Lebensenergie der Spermatozoen des genannten Ejakulates, welche nach der 32. Stunde völlig sistierte.

Der von der Außentemperatur beeinflusste Teil des gleichen Spermas zeigte folgendes Verhalten bei den verschiedenen Temperaturgraden:

0° C: Gute Beweglichkeit sämtlicher Spermatozoen.

2° C: Leicht schlängelnde Bewegung.

0° C: Das gleiche Bild: in der Verdünnung noch lebhaftere Bewegung.

4° C: Noch vielfach Bewegung, vereinzelt Zucken, in der Verdünnung jedoch lebhafter.

6° C: Das gleiche Bild.

3° C: Die Bewegung ist allgemein schwächer.

3° C: In der Verdünnung noch Zucken feststellbar, zum Teil auch noch Bewegung.

2° C: In der Verdünnung konnte nach einigen Minuten wieder Lebensäußerung hervorgerufen werden.

2° C: Die Bewegung sistiert vollkommen.

Die Angaben dieses Versuches erstrecken sich gleichmäßig auf eine Zeitspanne von 57 Stunden; das ergibt ein Plus der Lebensdauer der Spermatozoen gegenüber der Haltung bei Zimmertemperatur von 25 Stunden.

Aus dieser kurzen Gegenüberstellung geht also schon klar hervor, daß für die Erhaltung der Spermatozoen eine verhältnismäßig niedrigere Temperatur von wesentlicher Bedeutung ist, oder mit anderen Worten: Die Lebensdauer der Spermatozoen steht in einem umgekehrt proportionalen Verhältnis zu der Temperatur des Mediums, das sie umgibt.

6. Die Qualität des Spermas und ihre Bedeutung für die künstliche Besamung.

a) S c h r i f t t u m.

Die Untersuchung von Sperma nach den verschiedensten Gesichtspunkten hin und seine Verwendung zur künstlichen Besamung hat begreiflicherweise schon viele Autoren beschäftigt. Ich halte es daher für angebracht, auch hier einige Schriftumsangaben, welche irgendwie zum Thema gehören, voranzulassen.

So hat Römmele (32) folgende Forderungen aufgestellt: „1. Das Sperma ist rein und steril aufzufangen. 2. Das Sperma ist, wenn möglich, ohne jegliche Verdünnung zur Besamung zu verwenden. 3. Unreines Sperma ist zu zentrifugieren und mit isotonischer Rohr- oder Traubenzuckerlösung auszuwaschen. 4. Verdünnungsmittel für Sperma ist folgende Lösung: NaCl 0,95 + NaHCO_3 0,1 + NaH_2PO_4 0,005. 5. Sperma wird zum Aufbewahren unverdünnt in gut verschlossene Glastuben bei 4 bis

9° C gebracht. 6. Zuchtstiere sind vor einer geschlechtlichen Ueberanstrengung zu schützen, da mit der Zahl der zu schnell aufeinanderfolgenden Sprünge die Menge und Reife der Spermien verringert wird. 7. Röntgenstrahlen steigern die Bewegung, bewirken aber ein schnelleres Sistieren derselben."

Broman (6) hält im Zusammenhang mit den pathologischen Spermien bei Befruchtung eines Eies durch ein zweischwänziges Spermatozoon die Bildung von sog. eineiigen Zwillingen für möglich.

Polowzow (26) gibt zunächst an, daß tägliche Bewegung einen günstigen Einfluß auf die Zeugungsfähigkeit ausübe. Er führt dann weiter an, daß Redenz in einem nach der Kastration in situ gelassenen Nebenhoden vom Kaninchen noch nach 2 Monaten befruchtungsfähige Spermien fand, beim Hund sogar noch nach 3 Monaten. „Tournade und Delacarte behaupten, daß die nach Unterbindung des Samenleiters bei einem Kaninchen in diesem zurückgebliebenen Spermatozoen nach 7 Monaten die Konzeption bei einem Weibchen hervorgerufen haben.“ Ferner soll es bei zu häufiger Kohabitation zu starker Schädigung und bei zu langdauernden Zwischenpausen zu Degenerationserscheinungen und Zerfall der Spermatozoen kommen: das zweite Sperma sei dann wieder besser.

Dätwyler (9): „Die gebräuchlichen Desinfektionsmittel töten die Spermatozoen leicht ab.“

Miescher (22) stellte Ueberlegungen an über den eigentlichen Befruchtungsstoff. Die Spermatozoen sollen Träger von spezifischen, durch ihre chemischen Eigenschaften befruchtend wirkende Materien sein. Vermutet werden auch Fermente. Dies allein könne jedoch nicht genügen, da z. B. die Vererbung hiermit nicht erklärt werden kann. Miescher kommt dann zu dem Schluß: „Es gibt keine spezifischen Befruchtungsstoffe. Die chemischen Tatsachen haben sekundäre Bedeutung; sie sind einem höheren Gesichtspunkt untergeordnet.“

Cary (8) hat ebenfalls die Befruchtungsmöglichkeiten des Spermas eingehend studiert und drei Grundfragen aufgestellt, die in der Sterilitätsbekämpfung eine Hauptrolle spielen: a) We must be sure that we have semen with spermatozoa. b) We must ascertain if the spermatozoa enter the uterocervical canal. c) We must determine whether the secretions of this canal are favorable or not to the vitality of the spermatozoa. --- Determination of the activity of the spermatozoa is not sufficient to assure us of their power to impregnate the ovum, neither is the absence of motion an infallible sign of their impotency. In general, the fertility of semen depends upon the presence of:

1. Mature living spermatozoa (normal cells).
2. A normal secretion (liquor seminis) to convey the spermatozoa to the vagina and to maintain the vitality of the cells until such time as they may meet the ovum.

If, however, the sediment is greatly reduced in amount and the microscope shows a diminution in the number of spermatozoa, or sluggishness and lack of motion, early crystal formation, or presence of pus the specimen is probably defective."

Reynolds (29) betont die Bedeutung eines gesunden und leistungsfähigen Genitaltrakts für die Möglichkeit der Befruchtung und sagt: „Fertility is dependent primarily on the discharge of effective spermatozoa on the one side and the due release of a normal ovum on the other; but the best of spermatozoa and ova are useless to fertility unless the conditions in the female generative tract are such as to permit their conjugation.“

Ebenso betont Lespinasse (19), daß in Sterilitätsfällen sowohl der weibliche wie der männliche Partner untersucht werden sollen, wobei der Samen auf alle vorhandenen Bestandteile zu untersuchen ist. Er sagt dann: „Many cases of sterility attributed to the the woman are due to weak spermatozoa. — Weak sperm cases would indicate direct uterine insemination and glandular therapy, diet, modes of life, etc.“

Falk (11) sagt dann weiterhin: „Die Erfahrung hat gelehrt, daß die einmalige alleinige Samenuntersuchung nicht genügt (Richter, Wester).“ Er führt in diesem Zusammenhang die Tatsache an, daß Tiere mit langsam fortschreitenden Erkrankungen der inneren Genitalien in den verschiedenen Ejakulaten wechselnde Mengen von Spermien zeigen, zwischendurch auch keine. Nach Richter und Wester darf man nämlich so lange mit der Zeugungsfähigkeit rechnen, wie lebende Samenfäden allgemein im Ejakulat nachgewiesen werden.

Donham (10) hat ebenfalls eingehende Untersuchungen über Sperma und seine Befruchtungsfähigkeit angestellt und dabei interessante Ergebnisse erzielt: Von 9 Bullen mit normalem Sperma befruchteten 5 (= 55%), während von 15 Bullen mit anormalem Sperma ebenfalls 5 befruchteten (= 33%); dabei waren für eine Befruchtung im ersten Falle 2,1 Sprünge nötig, im zweiten dagegen 2,9; also trotz Steigerung der Sprungzahl keine Verbesserung der Befruchtungsmöglichkeit. Bei einer weiteren Untersuchung stellte er fest, daß von 75 gut deckenden Bullen 40%, von 30 schlecht deckenden dagegen 50% befruchteten, wobei die normale Spermienbewegung im ersten Falle 56%, im zweiten 56,67% betrug. Auch er hebt hervor, daß die Beschaffenheit des Samens so unterschiedlich ist, daß die Untersuchung nur einer Spermaprobe niemals ausschlaggebend ist.

„The problem of fertility in the bull is entirely different from that in the male of the human species.“

Stieve(34) zitiert eine Feststellung Waltons, wonach beim Meerschweinchen eine Samenflüssigkeit, welche etwa 10 000 Samenfäden in 3 ccm enthält, nicht mehr befruchtet. Weiterhin sagt Eggers, zitiert nach Stieve (34), „daß der bisher gültige Beweis für die Fruchtbarkeit eines männlichen Individuums mit dem Nachweis von bewegungsfähigen Samenfäden in der Samenflüssigkeit nicht voll erbracht ist.“ Stieve selbst hält ebenfalls die mikroskopische Untersuchung allein nicht für ausschlaggebend.

Nach Toivola (35) stellten Williams und Savage fest, daß beim Rind die Befruchtungsfähigkeit leidet, wenn unter 1000 Spermien mehr als 166 Abnormitäten zu finden sind.

Die Feststellungen Oppermanns (24) bewegen sich etwa in der gleichen Richtung, wenn er sagt: „Endlich kann die Zahl der Spermatozoen auffällig gering sein, was schlechte Aussichten auf die Befruchtung des Ovulums eröffnet. -- Der Nachweis einer impotentia generandi läßt sich lediglich durch eine Untersuchung des Ejakulates erhärten.“

Schließlich möchte ich aus der Fülle des Schrifttums noch die Erfahrungen anführen, welche Götze (13) bekanntgegeben hat: „Natürlich dichtes Sperma befruchtet bei künstlicher Einverleibung weniger gut als bis zu einem gewissen Grade verdünntes, insbesondere gilt dies für das von Natur aus dichte Sperma der Wiederkäuer. Man benutzt im Moskauer Institut die nach vielen Prüfungen für jede Tierart in besonderen Konzentrationen zusammengestellten Phosphat-Glukoseverdünner: Lösung 1.: Glukose, wasserfrei 54,0 + aqua dest. ad 1000; Lösung 2.: KH_2PO_4 3,2 + Na_2HPO_4 + H_2O 16,8 + aqua dest. ad 1000. Beide Lösungen werden bei Zimmertemperatur in der gewünschten Verdünnung gemischt. „Nur vorher mikroskopisch geprüftes, genügend dichtes Sperma wird verdünnt, und zwar je nach der Ausgangsdichte auf das 2—4—8—16 fache. Nach jeder Verdünnung ist das Sperma unter dem Mikroskop zu prüfen, bevor die Besamung ausgeführt wird.“ Im übrigen steht Götze auf dem Standpunkt, daß auf Grund der russischen Untersuchungen größere Mengen injizierten Spermas die Gebärmutter reizen und die Befruchtung in Frage stellen. Die optimale Dosis für das zu injizierende Sperma beträgt beim Pferd 5—10 ccm, beim Rind 1 ccm und beim Schaf 0,1 ccm.

6b) Eigene Ausführungen.

Alle diese Autoren stimmen fast durchweg darin überein, daß sie einen bestimmten zahlenmäßigen Gehalt des Spermas

an Spermatozoen zur Grundbedingung für jede Befruchtungsmöglichkeit machen. Auch bei meinen Versuchen hat sich erneut gezeigt, daß in erster Linie solche Kühe garnicht oder nur nach wiederholten Injektionen tragend wurden, welche mit einem an Samenfäden armen Sperma besamt wurden. Jedoch glaube ich nicht, daß dieser Punkt allein für das Gelingen oder Nichtgelingen einer Besamung von grundlegender Bedeutung sein soll. Vielmehr müssen hier, wie das auch im Schrifttum schon vielfach angegeben wurde, mehrere Faktoren in ihrer wechselseitigen Beziehung berücksichtigt werden. So ist selbstverständlich eine genaue klinische Untersuchung sowohl des weiblichen wie auch des männlichen Tieres vor der Besamung unerlässlich, wobei zunächst der allgemeine Gesundheitszustand besonders zu beachten ist. Die weitere Untersuchung des weiblichen Tieres hat sich dann auf die Beschaffenheit der Vagina, der Cervix und des Muttermundes, sowie auf eventuellen Ausfluß, auf die Brunsterscheinungen und das Brunststadium zu erstrecken. Eine Untersuchung des Scheidensekretes speziell auf Trichomonaden wird außerdem im Zweifelsfall von großem Nutzen sein. Die Prüfung der Bullen sollte zweckmäßigerweise einige Zeit vor der Samenentnahme vorgenommen werden, da die Tiere durch die Manipulationen am Genialapparat leicht unruhig werden und dann oft Deckunlust zeigen. Von Vorteil wird es dagegen sein, wenn man die Bullen vor der Samenentnahme noch einmal zum Harnlassen veranlassen kann, um eine nachträgliche Beschmutzung zu vermeiden. Allerdings darf dann nicht versäumt werden, daß der noch in den Präputialhaaren haftengebliebene Harn mit einem Tuch oder Wattebausch entfernt wird. Jedenfalls ist dafür Sorge zu tragen, daß das Sperma mit Hilfe einer der oben genannten Methoden möglichst rein und ohne fremde Bestandteile gewonnen wird.

Im Verlaufe dieser Arbeit habe ich die Untersuchung von Sperma nach den verschiedensten Richtungen vorgenommen und unter Berücksichtigung vieler Gesichtspunkte beschrieben. In der folgenden Betrachtung soll auf die Beziehungen des Spermas zur Befruchtungsmöglichkeit im Besonderen kurz eingegangen werden, wie sie sich aus den verschiedenen festgestellten Spermaqualitäten ergeben.

Von einem Sperma, welches zur künstlichen Besamung mit möglichst gutem Erfolg verwandt werden soll, muß man eine Reihe von Eigenschaften erwarten. Grundbedingung ist selbstverständlich, daß die bei der Gewinnung benutzten Instrumente und Geräte vollkommen einwandfrei und sauber sind und daß ferner alles vermieden wird, was zu einer Verschmutzung des Spermas, sei es durch Harn, Blut, Kot oder andere Stoffe, führen

könnte. Letzteres ist deshalb von besonderer Wichtigkeit, weil sich ja im Laufe unserer Untersuchungen gezeigt hat, daß gerade der Harn in hohem Maße geeignet ist, die Qualität des Spermas wesentlich herabzusetzen, was sich praktisch darin äußert, daß die einzelnen Spermatozoen durch den Zusatz alkalischen Harns wohl vorübergehend zu intensiver Bewegung angeregt werden, dabei aber ihre Kraft zu früh vergeuden und daher kaum oder nicht mehr in der Lage sind, den verhältnismäßig weiten Weg bis zum mütterlichen Ovum, zurückzulegen. Diesen manchmal nicht vermeidbaren Zustand sucht nun die Natur durch eine reichliche Ueberproduktion von Spermatozoen zu begegnen, so daß hierdurch die Befruchtungsaussichten wieder wesentlich gesteigert werden und gleichzeitig eine natürliche Auslese in dem Sinne getroffen wird, daß das leistungsfähigste Spermatozoen auch zuerst das erstrebte Ziel, eben das Ei erreicht und dieses befruchtet.

Ein weiterer wesentlicher Punkt, der für die Qualität des Spermas mit von ausschlaggebender Bedeutung ist, ist die Zahl der Spermatozoen in der Kubikeinheit, bzw. im Ejakulat überhaupt. Ich erwähnte bereits, daß spermienarme Ejakulate eine öftere Besamung der betreffenden Kühe notwendig machten als solche, bei denen das Gegenteil der Fall war. Es leuchtet daher ein, daß auf eine möglichst große Zahl an Spermatozoen besonderer Wert zu legen ist. So wurden beispielsweise mehrere Ejakulate des Bullen Josef, deren Spermatozoengehalt, wie sich bei der Untersuchung herausstellte, unter 1 Million lag, mit dem Erfolg appliziert, daß die Kühe nicht aufnahmen und deshalb erneut besamt werden mußten. Das erklärt sich ganz einfach aus der Tatsache, daß schon unter optimalen Verhältnissen zahllose Spermatozoen auf ihrem Wege durch den weiblichen Genitaltraktus infolge Erschöpfung auf der Strecke bleiben oder sich in den zahlreichen Falten und Nischen der Schleimhaut verirren, ihr Ziel verfehlen und somit ihren Zweck nicht erfüllen können. Wenn also nun schon von vornherein nur wenig Spermatozoen für diesen „Leistungsmarsch“ aufgeboten werden, welche außerdem vielleicht auch schon irgendwie Schaden genommen haben, so ist der Erfolg doch zum mindesten zweifelhaft. Durch die besonders in sehr dichten Ejakulaten häufig zu beobachtende Bewegungsträgheit, bzw. Bewegungslosigkeit der Spermatozoen darf man sich dabei keineswegs täuschen lassen. Im Gegenteil, in der Spermaflüssigkeit mit hoher Konzentration findet man sehr häufig ein beinahe völliges Sistieren jeglicher Bewegung. Die Spermaprobe Nr. 85 zeigt z. B. bei einer Spermienzahl von 2,53 Millionen pro cmm im unverdünnten Zustand keinerlei Bewegung, nach Zusatz des Phosphatverdünners ent-

fallen jedoch sämtliche Spermatozoen die höchste Bewegungsintensität. Ich halte daher ein solches Sperma für ganz besonders geeignet für die künstliche Besamung.

In einem gewissen Zusammenhang zu der Spermienzahl steht nun weiter der pH-Wert des betreffenden Spermas, wie das in den Kurven auf Seite 52 deutlich wird. Dem einen Extrem mit 2,53 Millionen Spermien pro cmm und einem pH-Wert von 5,81 steht hier das andere mit 0,03 Millionen und 7,96 pH gegenüber. Die übrigen Werte der Tabelle lassen sich entsprechend eingliedern und ergeben dann in ihrer Gesamtheit die bereits erwähnte Kurve. Es zeigt sich also deutlich eine fallende Tendenz der Spermienzahl bei steigendem pH-Wert. Das heißt, wiederum auf die Praxis angewandt, daß der pH-Wert schon einen wertvollen Aufschluß über die Qualität des Spermas geben kann. Wie ich bereits bei der Besprechung des betreffenden Kapitels betonte, halte ich einen pH-Wert von 6,4—6,6 für wünschenswert, welcher eher noch geringer als höher sein darf, zumal, wenn das gewonnene Sperma nicht unmittelbar nach der Gewinnung verbraucht wird.

Besonderes Augenmerk bei der Qualitätsbeurteilung des Spermas ist ferner noch zu richten auf das Vorkommen pathologischer Spermien und ihr zahlenmäßiges Vorhandensein im mikroskopischen Gesichtsfeld, und hier ist besonders zu achten auf losgelöste Spermienköpfe und unreife Spermien, d. h. also solcher Spermien, welche an Kopf, Mittelstück oder Schwanz noch einen Protoplasmatropfen tragen. Wenn solche Spermatozoen sich in reichlicher Zahl im Ejakulat finden, wird man am besten von seiner Verwendung zur künstlichen Besamung absehen; dasselbe trifft dann zu, wenn die Beweglichkeit der Spermatozoen auch nach Zusatz des Phosphatverdünners noch viel zu wünschen übrig läßt. Denn es ist ja klar, daß derart qualitativ minderwertige Spermatozoen den Widerständen, die sich ihnen im weiblichen Genitaltraktus entgegenstellen, niemals gewachsen sind und deshalb ihr Ziel auch nicht erreichen können.

Soll schließlich nun die künstliche Besamung aus irgendwelchen Gründen erst einige Zeit nach der Spermagewinnung durchgeführt werden, so ist eine Aufbewahrung des Spermas in einem möglichst kühlen Raum unerläßlich. Die Licht- und Sauerstoffverhältnisse spielen, wie wir gesehen haben, nicht die Rolle, wie gerade die Temperatur, bei welcher das Sperma aufbewahrt wird. Es ist daher empfehlenswert, das betreffende Sperma bei einer Temperatur von ca. 4° C am besten in einem Kühlschrank, bis zu seiner Verwendung aufzubewahren.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß an die Qualität eines einwandfreien Spermas, das zur künstlichen Besamung verwandt werden soll, folgende Anforderungen zu stellen sind:

1. Der Samenspender selbst soll nicht zu alt und muß klinisch vollkommen gesund sein.
2. Das Sperma muß mit Hilfe einer einfachen, handlichen Methode in sauberen Gefäßen aufgefangen werden.
3. Das Sperma soll eine möglichst rein weiße Farbe haben und keine fremden Beimengungen wie Harn, Blut, Schmutz usw. enthalten.
4. Die Zahl der Spermatozoen soll mindestens 1 Million pro cmm Samenflüssigkeit betragen.
5. Die Bewegungsintensität der einzelnen Spermatozoen soll eine rege sein und sich durch die Verdünnung möglichst noch steigern lassen.
6. Der pH-Wert des Spermas soll über 6.6 im allgemeinen nicht hinausgehen.
7. Das Sperma soll keine pathologischen Spermien in größerer Zahl, jedenfalls nicht über 25%, enthalten.
8. Das Sperma muß frei sein von krankmachenden Protozoen und Bakterien.
9. Soll gewonnenes Sperma befruchtungsfähig erhalten werden, so ist es bei ca. $+4^{\circ}\text{C}$ unter Lichtabschluß aufzubewahren.

7. Zusammenfassung.

Am Schlusse meiner Arbeit halte ich es für angebracht, die Ergebnisse meiner Untersuchungen noch einmal in einer kurzen Zusammenfassung darzutun:

1. Zur Gewinnung eines guten und zur künstlichen Besamung brauchbaren Spermas ist die Methode mit Hilfe der künstlichen Vagina am praktischsten und am besten geeignet. Ferner ist die Phantommethode, besonders dort, wo brünstige Kühe nicht immer zur Verfügung stehen, sehr wohl brauchbar.
2. Die mit Hilfe der genannten Methoden gewonnenen Speramengen schwanken zwischen 0,5 und 14 ccm bei einem Durchschnitt von 4,58 ccm pro Ejakulat. Die einzelnen Speramengen können von der Art der Gewinnung wesentlich beeinflußt werden. Die bei mehreren kurz aufeinanderfolgenden Sprüngen abgesonderten Speramengen nehmen fast durchweg mit jedem Ejakulat zu.
3. Die Farbe des reinen einwandfreien Bullenspermas ist weiß bis grauweiß und ändert sich je nach Art und Menge von verschiedenen Verunreinigungen.
4. Gutes Bullensperma zeigt im allgemeinen eine sahnige, zähe, klebrige Beschaffenheit mit leicht fadenziehender Eigenschaft. Die Konsistenz weist schon auf die Zahl der in der Kubikeinheit enthaltenen Spermatozoen hin. Ein sehr dichtes Sperma enthält im cmm bis zu 2 Millionen Samenkörperchen und darüber, während in einem dünnen und wässrigen Ejakulat die entsprechende Zahl weit unter 1 Million herabsinken kann.
5. Die Bewegungsintensität der Spermien ist in hohem Maße abhängig von der Spermienkonzentration, d. h. von der Anzahl der Spermatozoen in der Kubikeinheit. Um ein klares Bild von den tatsächlichen Bewegungsqualitäten der einzelnen Spermatozoen und ihrer Gesamtheit zu erhalten, ist die Anwendung einer Verdünnung unumgänglich notwendig, wofür sich der oben genannte Phosphatverdünner besonders gut eignet.

6. Durch die zeitlich sehr rasch aufeinanderfolgenden Pendelbewegungen des Spermien Schwanzes entsteht die Vorwärtsbewegung der Samenkörperchen, wobei der Kopf als passiver Teil gewissermaßen vorwärtsgeschoben wird. Ich neige am meisten der Ansicht zu, daß bei diesen Bewegungsvorgängen durch chemische Einflüsse hervorgerufene protoplasmatische Quellungsvorgänge eine gewisse Rolle spielen. Die normale Vorwärtsbewegung erfolgt unter lebhaft schlängelnden Schwanzbewegungen bei horizontaler Einstellung des Spermienkopfes in gerader Richtung.
7. Pathologische Spermien finden sich in jedem Ejakulat. Jedoch sind Größenabweichungen und Spermien mit mehreren Köpfen sehr selten. Spermien mit zwei Schwänzen konnten in drei Fällen beobachtet werden. Deformitäten des Kopfes verschiedener Art fanden sich vielfach. Lose Köpfe waren besonders in dünnen Ejakulaten häufig. Abnormitäten des Schwanzes kamen in manchen Ejakulaten in reichlicher Menge in der mannigfaltigsten Form vor; ihre Bewegungsfähigkeit ist abhängig von dem Grad der Abnormität.
8. Die Spermienzählung ist in der Verdünnung mit Hayem'scher Lösung und mit Hilfe des Bürkerschen Hämacytometers sehr gut durchführbar. Zwischen Farbe und Konsistenz des Spermas einerseits und der Spermienzahl andererseits bestehen gewisse Zusammenhänge. Die Zahl der Spermien schwankte zwischen 0.03 und 2.53 Millionen in cmm Samenflüssigkeit.
9. Im künstlich gewonnenen Bullensperma vorkommende Trichomonaden sind nach meinen Untersuchungen erst bei der Spermagewinnung sekundär in die Samenflüssigkeit hineingelangt und primär im Sperma selbst noch nicht vorhanden gewesen.
10. Die pH-Bestimmung nach der elektrometrischen Methode nach Roeder ist sehr gut durchführbar und liefert genaueste Ergebnisse. Der pH-Wert des normalen und gesunden Bullenspermas liegt im sauren Gebiet und sollte für Ejakulate, welche zur künstlichen Besamung verwandt werden, nicht über 6.6 hinausgehen. Er wird durch irgendwelche Beimengungen wesentlich beeinflußt und ist umso niedriger, je besser die Qualität des betreffenden Spermas anzusprechen ist. Die Zahl der Spermatozoen steht in einem bestimmten, umgekehrt proportionalen Verhältnis zu dem pH-Wert.
11. Die Spermatozoen können ihre Lebensenergie bei geeigneter Aufbewahrung bis zu 50 Stunden und darüber erhalten

und durch Zusatz des Phosphatverdünners wieder zu neuem Leben erwachen. Für die Aufbewahrung und Frischerhaltung des Spermas spielen die Licht- und Sauerstoffverhältnisse keine so große Rolle wie die Temperatur. Als Optimum hat sich hier eine Temperatur von ca. $+ 4^{\circ}\text{C}$ erwiesen.

12. Vor der Verwendung des gewonnenen Spermas zur künstlichen Besamung ist stets eine mikroskopische Untersuchung durchzuführen zwecks Nachprüfung des Vorhandenseins einer genügenden Anzahl gut beweglicher normaler Samenkörperchen.

8. Schrifttumverzeichnis.

1. Abelein: Die Bekämpfung der Trichomonadenseuche. D. T. W. 1934.
2. Ballowitz, E.: Weitere Beobachtungen über den feineren Bau der Säugetierspermatozoen. Ztschr. f. wiss. Zool. Bd. 52, 1891. Zitiert nach Ballowitz: Jensen.
3. Ballowitz, E.: Ueber das regelmäßige Vorkommen zweischwänziger Spermien im normalen Sperma der Säugetiere. Anat. Anz. Bd. 20, 1902. Zitiert nach Ballowitz: Broman.
4. Becher: Die Wirkung der inkretorischen Stoffe auf die Bewegung von Säugetierspermien. Ergänzt.-Heft z. anat. Anz. Bd. 71. Zitiert nach Becher: v. Lanz.
5. Bernhardt: Feststellung der Zahl der Samenfäden im Sperma des Hengstes. B. T. W. 1908, S. 793.
6. Broman, I.: Ueber atypische Spermien und ihre mögliche Bedeutung. Anat. Anz., Upsala 1902, Bd. 21, Nr. 18 u. 19. Zitiert nach Broman: Ballowitz, v. Bardeleben, Bertachini, Cutler, Maddox, Retzius, Regaud, v. la Valette St. George, v. Wiedersperg.
7. v. Brunn, A.: Beiträge zur Kenntnis der Samenkörper und ihrer Entwicklung bei Säugetieren und Vögeln. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 23, 1884, S. 108. Zitiert nach v. Brunn: Grohe Eimer, Krämer.
8. Cary, W. H.: Examination of semen with special reference to the gynecological aspects. The Amer. Journ. of Obst. Bd. 74, 1916, S. 615. Zitiert nach Cary: Groß, Kehrer, Leigois, Uitzmann.
9. Dätwyler, W.: Ueber die Bewegung der Spermatozoen der Haustiere. Diss. Zürich 1918. Zitiert nach Dätwyler: Ballowitz, Benda, Koltzow, Verworn, Waldeyer.
10. Donham, C. R. and B. T. Simms: Fertility studies in the bull. J. of Amer. Vet. med. Ass., Vol. 78, 1931, S. 658.
11. Falk, Fr.: Beiträge zur Aetiologie der Impotenz des Bullen. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkde. Bd. 51, 1932, S. 447. Zitiert nach Falk: Richter, Wester.
12. Feiling, O.: Gewinnung und Untersuchung von Samen gesunder und kranker Bullen zum Zwecke der künstlichen Besamung des Rindes. Diss. Gießen, 1935. Zitiert nach Feiling: Amantea, Everette, Fincher, Fred, Kusnetzowa, Miller, Milowanow, Moench, Nagaew, Neumann, Sand, Skatkin, Stribolt.
13. Götze, R.: Künstliche Besamung. D. T. W. 1933, S. 801.
14. Haupt: Untersuchungen über die Pathogenität der Trichomonas vaginalis. Münch. med. Wschr. 1924, S. 204. Zitiert nach Haupt: Wille.

15. Hirowaka, W.: Ueber den Einfluß des Prostatasekretes und der Samenflüssigkeit. Biochem. Ztrbl. 1909, Vol. 19. Zitiert nach Hirowaka: Finger, Fürbringer, Kasper, Kölliker, Lohnstein, Pezzoli, Pöhl, Steinach, Walker.
16. Iwanoff: Die künstliche Befruchtung der Haustiere.
17. Lagerlöf: Morphologische Untersuchungen über Veränderungen im Spermiabild. Upsala 1934. Zitiert nach Lagerlöf: Amantea, Broman, Gilman, Holt, v. Jaschke, Kusnetzowa, Lode, Moench, Pankow, Posner, Redenz, Retzius, Rönnele, Runge, Savage, Stöckel, Wester, Williams.
18. v. Lanz: Der Nebenhoden einiger Säugetiere als Samenspeicher. Ergänz.-Heft. Anat. Anz. z. Vol. 1924. Zitiert nach v. Lanz: Braus, Redenz.
19. Lespinasse, V. D.: Sterility studies with particular reference to weak spermatozoa. J. of the Amer. Med. Ass. Bd. 68, 1917, S. 345. Zitiert nach Lespinasse: Quinby.
20. Lode: Untersuchungen über die Zahlen- und Regenerationsverhältnisse der Spermazoiden bei Hund und Mensch. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 50, 1891. Zitiert nach Lode: Dumas, Leuckart, Mantegazza, Prevost.
21. Merton, H.: Die Bewegungen der Samenzellen und ihr kinetisches Zentrum. Z. f. Zellforsch. u. mikr. Anat. Bd. 5, 1927, S. 629.
22. Miescher, F.: Die Spermatozoen einiger Wirbeltiere. Ein Beitrag zur Histochemie. Verh. der Naturforsch. Ges. in Basel, Bd. 6, 1873.
23. Van Oord und v. d. Heyde: Der Einfluß der Temperatur auf die Spermiogenese der Säuger. Arch. Entw. Mech. Bd. 113, 1928, S. 39.
24. Oppermann: Sterilität der Haustiere. Hannover 1912.
25. Peter, K.: Das Zentrum für die Flimmer- und Geißelbewegung. Anat. Anz. Bd. 15, 1899, S. 271.
26. Polowzow, W.: Die Spermatozoenproduktion beim Pferde. 1. Mitteilung: Ueber den Einfluß der häufigen Kohabitationen auf die Spermienproduktion. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiologie, Bd. 218, 1928. Zitiert nach Polowzow: Amantea e Krziczowsky, Delacarte, Lloyd Jones and Hays, Lewis, Ludwig, Notnagel, Redenz, Tournade.
27. Redenz, E.: Versuch einer biologischen Morphologie des Nebenhodens. 2. Die Bedeutung elektrolytarmer Lösungen für die Bewegungen der Spermien. Roux' Arch. Bd. 106, 1925, S. 290.
28. Retzius, G.: Zur Kenntnis der Spermatozoen. Biol. Untersuchung, Stockholm 1881, S. 77.
29. Reynolds: E.: Fertility and sterility. J. of the Amer. Med. Ass. Vol. 67, 1916, S. 1193.
30. Richter: Der mikrochemische Nachweis von Sperma. Wiener klin. Wschr. 1897, Nr. 24. Zitiert nach Richter: Florence.
31. Richter: Ueber die Sterilität bei Bullen. B. T. W. Bd. 48, 1932, S. 49.

32. R ö m m e l e, O.: Biol. und physiol. Untersuchungen am Sperma und am Scheidensekret des Rindes im Hinblick auf die künstliche Besamung. Zool. Jahrbücher, Abt. f. allgem. Zool. u. Physiol. Bd. 44, 1927—28, S. 85. Zitiert nach Römmele: Döderlein, Hirowaka, Mettenleiter, Scheuring.
33. S t i e g l e r, R.: Der Einfluß des Nebenbodens auf die Vitalität der Spermatozoen. Pflügers Arch. f. Physiol. Bd. 171, 1918, S. 273. Zitiert nach Stiegler: Mantegazza, Schaffer.
34. S t i e f e, H.: Samenzellenverklumpung als Grund für die Unfruchtbarkeit gesunder Tiere. Z. mikr.-anat. Forsch. Bd. 12, 1927—28, S. 233. Zitiert nach Stieve: Eggers.
35. T o i v o l a: Untersuchungen über die Färbeverfahren für Spermatozoen des Bullen und des Ebers. Leipzig 1931. Zitiert nach Toivola: Hoffmann, Lewin, Margo, Möller, Thoms, Valentin, Weber.
36. v. l a V a l e t t e St. George: Ueber die Genese der Samenkörper. Arch. mikr. Anat. Bd. 1, 1865, S. 403. Zitiert nach v. la Valette: Kölliker.
37. v. W i e d e r s p e r g, G.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Samenkörper. Arch. mikr. Anat. Bd. 25, 1885, S. 113.
38. W i l l i a m s und A. S a v a g e: Observations on the seminal micropathology of bulls. The Cornell Vet. Vol. 15, 1925, S. 353.
39. W i n d s t o ß e r: Ueber die Atmung der Säugetierspermien. Klin. Wschr. 14 Jahrg. Nr. 6, 1935.
40. W i t t e: Tierversuche zur Prüfung der Pathogenität der in den Genitalien des Rindes vorkommenden Trichomonaden. Arch. f. prakt. u. wiss. Tierhkd. 1933, S. 333. Zitiert nach Witte: Abelein, Drescher, Pfenninger, Riedmüller, Weidenauei.
41. Z a b e l: Beiträge zur Kenntnis und Färbung der Spermatozoen des Bullen und des Ebers. Leipzig 1931. Zitiert nach Zabel: Peter.

Lebenslauf.

Ich, Werner Kuhne, wurde am 15. August 1910 zu Wetzlar als Sohn des Zahnarztes Georg Kuhne und seiner Ehefrau Lina-geb. Schwalb, geboren. Nach einer dreijährigen Vorschule trat ich zu Ostern 1920 in die Sexta des Staatlichen Goethe-Gymnasiums zu Wetzlar ein und bestand an der gleichen Schule Ostern 1931 die Reifeprüfung. Mit dem Sommersemester desselben Jahres begann ich zu Gießen das Studium der Veterinärmedizin, bestand ebendort die tierärztliche Vorprüfung im Sommer 1933 und setzte dann nach einem weiteren, dem ersten klinischen Semester, meine Studien für die Dauer eines Semesters in Hannover fort. Darauf kehrte ich wieder nach Gießen zurück, um dort meine Studien mit dem am 19. Juni 1936 bestandenen Staatsexamen zu beenden. Anschließend nahm ich während der Monate Juli, August und September am Städtischen Schlachthof zu Gießen an einem Kursus über Fleischbeschau und tierärztliche Lebensmittelüberwachung teil.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Küst, Direktor der Ambulatorischen und Geburtshilflichen Veterinärklinik Gießen, für die Ueberlassung der interessanten Arbeit und für die stets liebenswürdige Unterstützung meinen ehrerbietigsten Dank zu sagen.

